

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Učitelství biologie a geografie pro střední školy



Bc. Michaela Nevěčná

Význam mykorhizní symbiózy pro průběh primární sukcese

ve vápencovém lomu

The importance of mycorrhizal symbiosis for the course of primary succession
in a limestone quarry

Diplomová práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Zuzana Münzbergová, PhD.

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 4. 5. 2015

.....
Michaela Nevěčná

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce doc. RNDr. Zuzaně Münzbergové za ochotu pomoci a poradit, za čas, který mi věnovala, a za přátelský přístup, s nímž vedla tuto diplomovou práci.

Ráda bych poděkovala také pracovníkům Botanického ústavu AV ČR, kteří mi pomohli hlavně s praktickou částí diplomové práce.

Za poskytnutí některých dat a spolupráci v terénu děkuji Mgr. Elišce Kuťákové.

V neposlední řadě děkuji svým rodičům za pomoc s terénními pracemi. Největší dík si však zaslouží za podporu, kterou mi poskytovali během mého studia.

Použité zkratky

AMF- arbuskulárně mykorhizní houby

AMS- arbuskulárně mykorhizní symbióza

MIP- mykorhizní inokulační potenciál

R/S- poměr hmotnosti podzemní biomasy a nadzemní biomasy

GLM- zobecněný lineární model

Vysvětlivky

Původ půdy- rozumíme tím, zda půda pochází ze stepi či z výsypky

Typ ošetření - vyjadřuje, zda byla půda sterilizována či nikoliv

Abstrakt

Arbuskulární mykorhizní symbióza vznikla před miliony let a stala se jedním z nejdůležitějších symbiotických vztahů vůbec. S přibývajícím zásahy člověka do přírodního prostředí její důležitost roste. Porozumění významu mykorhizních hub při sukcesi vegetace na výsypky lomů může výrazně pomoci při obnově takto narušených míst a v neposlední řadě může výrazně zlevnit celý proces rekultivace. Cílem této diplomové práce bylo popsat vývoj arbuskulárních mykorhizních hub na výsypce lomu Čerínka a schopnost těchto hub ovlivnit skladbu rostlinného společenstva tamtéž.

Pro naplnění těchto cílů byl určen mykorhizní inokulační potenciál, ze kterého vyplývá, že mykorhizní houby se šíří na výsypku poměrně rychle. Aplikace půdního inokula jako zdroje původního přirozeného společenstva arbuskulárních mykorhizních hub a jiných půdních mikroorganismů zatím nepotvrdila jejich vliv na skladbu rostlinného společenstva. Skleníkový pokus s dvěma původními stepními druhy rostlin popisuje význam arbuskulárních mykorhizních hub pro šíření specializovanějších druhů rostlin na výsypku.

Klíčová slova:

arbuskulární mykorhizní symbióza, sukcese, výsypka, vápencový lom, vegetace

Abstract

Arbuscular mycorrhizal symbiosis was established millions of years ago and became one of the most symbiotic relationship at all. With increasing human interventions in the natural environment, its importance is growing. Understanding the importance of mycorrhizal fungi in the succession of vegetation on spoil banks, can significantly help rebuild the disturbed sites and can significantly reduce the cost of the entire process of reclamation. The aim of this study was to describe the development of arbuscular mycorrhizal fungi on spoil bank of quarry Čeřinka and the ability of these fungi to influence the structure of local plant community.

To fulfil these aims, mycorrhizal inoculum potential was determined. It demonstrated that mycorrhizal fungi spread on spoil bank relatively fast. Application of soil, a source of inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi and other soil microorganisms did not influence the composition of the plant community. Greenhouse experiment with two of the original steppe plant species, describes the importance of arbuscular mycorrhizal fungi for spread more specialized species in the spoil bank.

Key words:

arbuscular mycorrhizal symbiosis, succession, dump, limestone quarry, vegetation

Obsah

1. Úvod.....	9
1. 1. Interakce rostlin a AMF na výsypkách.....	9
1. 2. Význam mykorhizní symbiózy při obnově narušených míst.....	11
2. Cíle	13
3. Charakteristika lokality	14
4. Metodika.....	16
4. 1. Vymezení trvalých ploch.....	16
4. 2. Snímkování vegetace.....	17
4.3. Inokulace trvalých ploch půdou	17
4. 4. Mykorhizní inokulační potenciál (MIP)	18
4. 5. Vliv půdních organismů na růst <i>Festuca rupicola</i> a <i>Koeleria macrantha</i>	19
4. 6. Statistické zpracování dat	21
5. Výsledky.....	23
5. 1. Půdní podmínky	23
5. 2. Inokulace trvalých ploch půdou.....	26
5. 3. Mykorhizní inokulační potenciál a vyprodukovaná biomasa	27
5. 3. 1. Mykorhizní inokulační potenciál.....	27
5. 3. 2. Množství vyprodukované biomasy.....	28
5. 4. Hodnocení vlivu půdních organismů na růst <i>Festuca rupicola</i> a <i>Koeleria macrantha</i>	31
5. 4. 1. Hodnocení klíčivosti.....	31
5. 4. 2. Množství vyprodukované biomasy.....	33
5. 4. 3. Kolonizace kořenů.....	35
5. 4. 4. Klíčivost, kolonizace a růst – vliv inokulace	36
6. Diskuze.....	40

6. 1. Inokulace půdou	40
6. 2. Mykorhizní inokulační potenciál a množství vyprodukované biomasy ..	41
6. 3. Vliv půdních organismů na růst <i>Festuca rupicola</i> a <i>Koeleria macrantha</i>	43
7. Závěr	47
8. Použitá literatura	48

1. Úvod

Výsypky tvoří téměř 1 % zemského povrchu a v mnoha zemích jsou významnou částí krajiny (Walker 1992). Materiál, kterým jsou výsypky tvořeny, je většinou poměrně nepříznivý, a to jak z hlediska vodních poměrů, vzniku eroze, tak třeba z hlediska nižšího množství dostupných živin (Schulz, Wiegand 2000; Püschel et al. 2007). I přes relativně nepříznivé podmínky jsou výsypky místem, kde probíhá proces tzv. primární sukcese. Tedy proces postupné kolonizace území, které dosud nebylo ovlivněno žádnou z biotických složek prostředí (Townsend et al. 2010).

Vzhledem k extrémním podmínkám panujícím na výsypkách je pro jejich kolonizaci rostlinami symbióza s mykorhizními houbami velice důležitá (Turnau et al. 2002). AMF jsou většinou první z mykorhizních hub, které dokážou s rostlinami vytvářet funkční symbiotický vztah (Fujiiyoshi et al. 2006). V prostředí s nízkým obsahem živin mohou AMF výrazně usnadňovat rostlinám příjem P, C, nebo N (Gryndler et al. 2004). Na druhou stranu houby získávají v této symbióze C (Smith, Read 1997).

Samotné AMF mají schopnost ovlivňovat půdní vlastnosti tak, že půda je méně náchylná k erozi a lépe se v ní udržuje voda (Wright, Upadhyaya 1998). Na výsypkách s vysokým obsahem těžkých kovů dokážou snížit množství kovů dostupné rostlinám například tím, že těžké kovy samy naváží na struktury ve své buněčné stěně, nebo je koncentrují do vakuol (Galli et al. 1994; González-Guerrero et al. 2008).

1. 1. Interakce rostlin a AMF na výsypkách

Na začátku vývoje výsypky je počet AMF velice nízký a obecně se dá říci, že jejich počet a schopnost infikovat rostliny roste společně se stářím lokality (Gould et al. 1996). Schopnost AMF infikovat hostitele je ovlivňována nejen časem, po který se mohou mykorhizní houby šířit a vyvíjet na výsypce, ale také abiotickými podmínkami a rostlinami, které se na výsypce vyskytují (Rydlová, Vosátka 2001; Püschel et al. 2008). Rostliny, které expandují na výsypky jako první, jsou totiž druhy, které nevytváří s AMF za normálních okolností funkční symbiotický vztah (Reeves 1985 podle Püschel

et al. 2007). Mezi takové řadíme například zástupce z čeledí *Amaranthaceae*, *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae* (Püschel et al. 2007). Nepřítomnost mykorhizních druhů rostlin v počátcích vývoje výsypek může být způsobena nízkou schopností hub infikovat hostitele. Na druhé straně nízká schopnost mykorhizních hub infikovat hostitele může být dána právě nepřítomností vhodného rostlinného hostitele (Janos 1980).

Dříve se mělo za to, že o vzniku AMS rozhoduje pouze míra závislosti rostliny na této symbióze, nicméně se ukázalo, že záleží na identitě obou partnerů. Rostlinné druhy se liší ve své odpovědi na různé druhy AMF. Některé rostou nejlépe v symbióze pouze s jedním symbiotickým partnerem, jiné vykazují největší množství biomasy, pokud jsou pěstovány s více druhy AMF (Heijden et al. 1998). Různé druhy hub mají tedy odlišné účinky na různé druhy rostlin, čímž mohou měnit strukturu rostlinného společenstva (Püschel et al. 2007). Na druhé straně rostliny dokážou ovlivnit diverzitu, sporulaci nebo i množství spor jednotlivých druhů mykorhizních hub v půdě (Eom et al. 2000; Westover et al. 1997).

Šíření mykorhizních hub se děje hlavně prostřednictvím spor, jejichž hlavními vektory jsou vítr a zvířata (Warner et al. 1987). Podle Püschela et al. (2008) šíření mykorhizních propagulí probíhá poměrně rychle, což je v protikladu oproti studii Allen (1980), podle níž se mykorhizní houby šíří na výsypky pomalu. Po ustanovení AMS na stanovišti se mykorhizní houby šíří také prostřednictvím extraradikální mycelia, jehož schopnost infikovat hostitele je větší než samotných spor (Püschel et al. 2007).

Schopnost mykorhizních hub vytvořit s rostlinami funkční symbiotický vztah se určuje podle hodnoty mykorhizního inokulačního potenciálu půdy. Pro určení MIPu se běžně používají rostliny kukuřice, u nichž je předpoklad, že dokážou vytvářet AMS s většinou AMF. Rostliny se pěstují na námi zvoleném substrátu a po určité době se vyhodnotí kolonizace kořenů AMF. Podle hodnoty MIPu tedy určíme, do jaké míry jsou AMF v půdě schopné infikovat rostlinného symbionta (Moorman, Reeves 1979).

Jedním z cílů této diplomové práce bylo zhodnotit MIP půdy z různě starých částí výsypky a ze stepi, která představuje původní přirozené rostlinné společenstvo.

1. 2. Význam mykorhizní symbiózy při obnově narušených míst

Na místech, jako jsou výsypky, s těžkými přírodními podmínkami, by se měla řešit otázka, zda ponechat výsypku zcela bez zásahu člověka, tedy přirozené sukcesi, nebo zda je potřeba využít prostředků technické rekultivace jako aplikace svrchní vrstvy půdy, organického materiálu, vysévání travních a bylinných společenstev nebo vysazování stromů (Hodacova, Prach 2003; Prach, Hobs 2008). Stále zřídka se využívá postupů, kdy je přirozený proces rekultivace ovlivňován jen částečnými zásahy člověka (Tropek et. al. 2012). Takovými zásahy může být vysévání rostlinných druhů přirozeně se vyskytujících v okolí výsypky, ale také manipulace s mykorhizními houbami (Baasch et al. 2012; Middleton, Bever 2012). Jednou z metod, jejíž využití v praxi se zkoumá, je použití mykorhizních hub v kombinaci s různými typy bakterií (Vessey 2003; Rydlová et al. 2010). Další možností je použití AMF v kombinaci s aplikací organického substrátu (Gryndler et al. 2008; Püschel et al. 2008). Použity mohou být i komerčně vyrobené přípravky, které obsahují většinou několik druhů AMF (Rydlová et al. 2008).

Neméně prospěšným přístupem by mohla být aplikace půdního inokula. Jako půdní inokulum je používána půda pocházející z původního zachovaného společenstva, pokud se takové v blízkosti výsypky nachází. O tomto inokulu předpokládáme, že obsahuje AMF, bakterie nebo třeba bezobratlé živočichy (Wardle et al. 2004). Půdní inokulum z pozdně sukcesních společenstev obsahuje více AMF a není tak výrazně ovlivněno patogeny, jak tomu bývá často u mladších rostlinných společenstev (Bardgett et al. 2005).

Po aplikaci půdního inokula lze sledovat urychlení sukcese (Rowe et al. 2007). Některé rostlinné druhy se objevují na inokulovaných plochách dříve ve srovnání s plochami neinokulovanými (Middleton, Bever 2012). Jedná se zejména o pozdně sukcesní druhy, které se šíří na úkor druhů dominujících v prvních fázích sukcese. Také lze pozorovat, že po inokulaci půdou pozdně sukcesní druhy zvyšují množství vyprodukované biomasy opět v protikladu k druhům časně sukcesním (Rowe et al. 2007). Na hodně zničených místech se půdní inokulum nemusí projevit ihned, ale až po zlepšení půdních podmínek (Frost et al. 2001).

V našem terénním pokusu jsme inokulovali vybrané plochy na výsypce půdním inokulem ze stepi. Tyto plochy jsme porovnávali s plochami neinokulovanými. Touto

cestou bychom chtěli porovnat naše výsledky z výsypky vápencového lomu s výsledky studií prováděných na travních společenstvech (Middleton, Bever 2012), ale třeba i ze stanovišť vzniklých po ústupu ledovce (Titus, del Moral 1998).

Výzkumy ukazují, že pozdně sukcesní druhy rostlin jsou více závislé na AMS než druhy, které se na stanovištích objevují v počátku sukcese, a to i přes to, že i tyto druhy mají schopnost vytvářet AMS (Noyd et al. 1995). Tuto teorii jsme se pokusili ověřit skleníkovým pokusem. Dva druhy rostlin, každý z jiné fáze sukcese v lomu Čerínka, jsme pěstovali na různých substrátech, za účelem zjistit, jak tyto druhy reagují na různé typy půd pocházejících z tohoto lomu.

2. Cíle

Hlavním cílem této diplomové práce je zhodnotit možný vliv arbuskulární mykorhizní symbiózy na sukcesi vegetace na výsypce vápencového lomu Čeřinka. Dále se snažíme zjistit, jaký je vývoj samotných AMF na takovýchto místech.

Cíle lze shrnout do následujících otázek:

Liší se hodnoty MIPu mezi stepí a výsypkou?

Liší se hodnoty MIPu v závislosti na vzdálenosti od stepí?

Projevují se hodnoty MIPu na množství vyprodukované biomasy?

Má inokulace půdou vliv na druhové složení a diverzitu vegetace na výsypce?

Jak reagují rostlinné druhy s odlišnou schopností šířit se na výsypku na půdní společenstvo pocházející z rozdílných stupňů vývoje stanoviště a jak se jejich růst změní po sterilizaci půdy?

3. Charakteristika lokality

Studovaná lokalita, lom Čeřinka, leží ve Středočeském kraji v okrese Beroun přibližně 1 km JV od obce Bubovice (Česká geologická služba 2015). Z hlediska ochrany přírody patří toto území do 2. zóny chráněné krajinné oblasti Český kras. Tato oblast se vyznačuje průměrnou roční teplotou 8-9°C a průměrným ročním úhrnem srážek 530 mm (Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky 2015). Část lomu sousedící na JZ straně s Pání horou pak ještě spadá do národní přírodní rezervace Karlštejn a právě v této části byla zahájena roku 1961 těžba vápenců (Mayerová 2009).

Ložiska vápence vznikla ve spodním devonu, a to převážně z drtí a úlomků schránek živočichů korálových útesů. Jedná se o vápenec chemický- cca 60 %, jenž je využíván pro odsiřování elektráren, a vápenec vhodný pro stavební účely cca- 40% (Lomy Mořina 2014). V oblasti docházelo k významné krasové činnosti, důsledkem čehož vznikla na Čeřince jeskyně Arnoldka, jež je jednou z nejdelších a nejhlubších jeskyní v Čechách. Významná je také propast Na Čeřince (Geospeleos 2015). Lokalita je významným paleontologickým nalezištěm a to zejména ichnofosilií (Lomy Mořina 2015).

Výzkum probíhal na části výsypky lomu, jež byla od roku 2009 ponechána přirozené sukcesi. Tato část výsypky leží v těsném sousedství Pání hory, na které se vyskytuje stepní společenstvo. Na jižní svah výsypky je pak navezena oranice, která stejně jako habrový porost na S svahu přímo sousedí s pozorovanou lokalitou.

Samotná výsypka je tvořena hlavně jílovým materiálem vytěženým z lomu Čeřinka. Kuťáková E. (2013) sledovala od jara 2011 do jara 2013 abiotické podmínky na výsypce a došla k následujícím charakteristikám:

Tab. č. 1. Abiotické podmínky na výsypce.

	teplota[°C]						vlhkost	
	půda		povrch		vzduch		půda	
	max	min	max	min	max	min	max	min
výsypka	28,33	-8,00	35,33	-11,67	43,33	-21,67	2572,67	425,33
step	22,33	-4,00	29,33	-7,33	41,00	-20,00	1850,67	540,67

Z tabulky lze vyvodit, že ve všech teplotních charakteristikách vykazuje vyšší teploty výsypka. Výsypka je oproti stepi také výrazně vlhčí, nicméně lze říci, že hůře vláhu udržuje v obdobích sucha (Hodnoty pro vlhkost jsou uvedeny v arbitrárních jednotkách. Pro převod na procenta lze použít internetové stránky: <http://tomst.com/tms/tacr/Calibration-set-TMS3.pdf>).

Obr. č. 1. Letecký snímek lomu Čeřinka. Zdroj: <http://www.mapy.cz/>



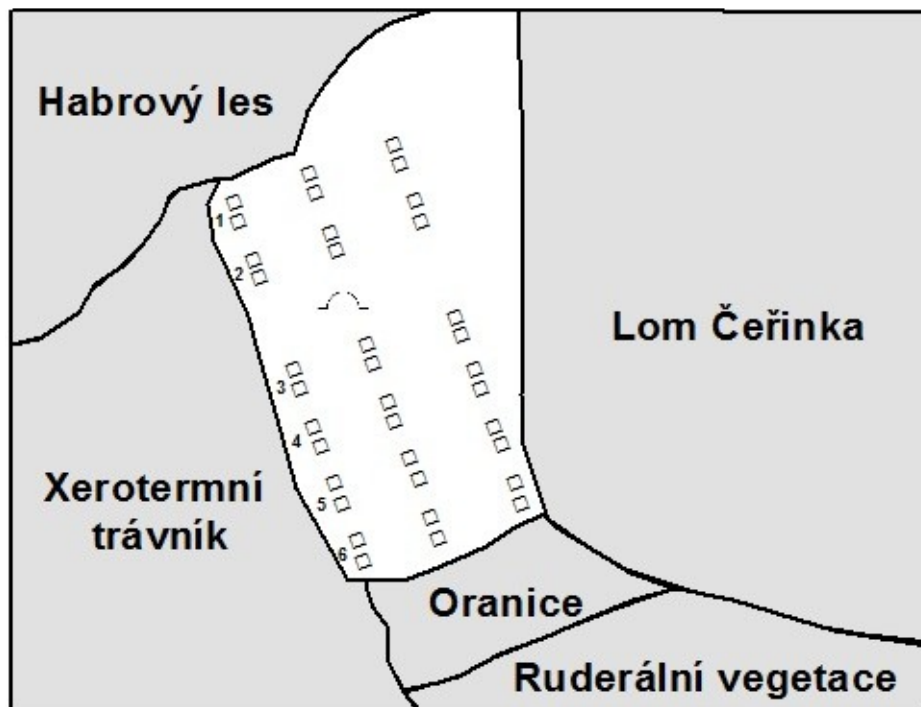
4. Metodika

4. 1. Vymezení trvalých ploch

V létě roku 2013 bylo na výsypce lomu Čeřinka vymezeno 36 ploch pro sledování vlivu mykorhizních hub na zdejší vegetaci. Plochy byly rozmístěny do 6 transektů kolmých na hranu lomu. Vzdálenost mezi jednotlivými transekty byla stanovena přibližně na 10 m. Mezi druhým a třetím transektem je vzdálenost větší, neboť se mezi nimi nachází jeskyně Arnoldka. Transektory jsou vzájemně rovnoběžné.

Do každého z transektů byly umístěny vždy 3 dvojice ploch ve vzdálenosti 10 m, 30 m a 50 m směrem od hrany lomu. Mezi plochami ve dvojici byla vzdálenost stanovena na 2 m. Každá plocha má rozměry 1x1 m a jsou vyznačeny pomocí umělohmotných štítků, které byly připevněny kovovými hřebíky k zemi.

Obr. č. 2: Nákres zobrazující rozmístění jednotlivých transektů (1-6) a ploch (□).



4. 2. Snímkování vegetace

Na všech 36 plochách byla snímkována vegetace. Snímkování probíhalo vždy přibližně ve stejnou dobu, a to v červenci v letech 2013 a 2014. Zaznamenávána byla procentuální pokryvnost jednotlivých druhů cévnatých rostlin podle Kubáta et al. (2002). Některé rostliny byly z důvodu špatné rozlišitelnosti určovány pouze na úroveň rodu. Rod *Vicia* obsahuje druhy *V. angustifolia*, *V. hirsuta*, *V. tetrasperma* a *V. tenuifolia*. *Melilotus albus* a *Melilotus officinalis* byly určovány jako *Melilotus* (Kuťáková 2013).

4.3. Inokulace trvalých ploch půdou

V září roku 2013 byla na polovinu z trvalých ploch přenesena půda ze stepi. Vždy jedna plocha z dvojice byla inokulována a druhá nikoliv.

Půda byla odebírána z okraje stepi, jež těsně sousedí s výsypkou, a to z hloubky nepřesahující 30 cm. Následně byla přeseta přes síto pro odstranění rostlinné biomasy. Na trvalé plochy bylo naneseno vždy 10 l této půdy, která vytvořila vrstvu o výšce 2 cm. Druhá plocha z dvojice zůstala bez ošetření.

Protože lze předpokládat, že s přenosem půdy na výsypku mohlo dojít i k přenosu semen stepních rostlin (Slavíková 1986), bylo pomocí Kopeckého válečků odebráno 30 vzorků půdy, každý o objemu 100 cm³. Tato půda byla odebírána ze stejného místa jako půda použitá pro inokulaci. Vzorky byly rozloženy na umělohmotné misky a umístěny do skleníku, kde byly pravidelně zalévány.

Na půdních vzorcích vyklíčily následující druhy rostlin:

Tab. č. 2. Počty vyklíčených rostlin

druh	počet rostlin	<i>Koeleria macrantha</i>	9
<i>Alium sp.</i>	1	<i>Medicago falcata</i>	17
<i>Arrhenaterum elatius</i>	3	<i>Poa angustifolia</i>	52
<i>Rhynchosloa crus-gali</i>	1	<i>Sedum album</i>	1
<i>Festuca pratensis</i>	16	<i>Veronica prostrata</i>	1
<i>Hypericum perforatum</i>	16		

4. 4. Mykorhizní inokulační potenciál (MIP)

V létě roku 2013 byla v každém transektu ve vzdálenosti 10 m, 30 m a 50 m (vždy v prostoru mezi inokulovanou a neinokulovanou plochou) odebrána půda pro určení mykorhizního inokulačního potenciálu (MIPu) půdy. Za stejným účelem byla odebrána také půda ve vzdálenosti 100 m a na přilehlé stepi, vždy v rovině každého z transektů.

Půda z každého odběru byla drcena a přesívána přes síto a následně rozdělena do 6 květináčů o objemu 180 ml. Do takto připravené půdy byla vložena vždy jedna klíčící obilka *Zea mays*. Obilky klíčily předchozí tři dny v Petriho misce s destilovanou vodou. Ta byla každý den doplňována.

Celý pokus byl umístěn do skleníku se stabilními podmínkami. Rostliny byly zalévány denně destilovanou vodou a ozařovány 12 hodin halogenidovými zářivkami o výkonu 400 W taktéž denně. Přibližně po 6 týdnech byla takto pěstovaná kukuřice sklizena. Podzemní biomasa musela být omývána pod tekoucí vodou pro uvolnění kořenů z půdy. Následně byla oddělena podzemní a nadzemní biomasa. Jemné kořenové vlášení bylo odebráno, uloženo do lahvíček a zalito 10% KOH až do zahájení procesu barvení. Zbytek podzemní biomasy a nadzemní biomasa byla vysušena v sušičce při teplotě 60 °C pět dní po osmi hodinách. Podzemní i nadzemní biomasa byla zvážena na analytických vahách a později byla využita pro určení poměru nadzemní a podzemní biomasy (R/S).

Nejpoužívanější metodou barvení mykorhizních hub je barvení pomocí trypanové modři v laktoglycerolu (Koske, Gemma 1989) a tato metoda byla využita i v tomto pokusu. Lahvičky s kořenovým vlášením v 10% roztoku KOH byly vloženy 60 minut na 90°C do sušárny. Tímto krokem jsme dosáhli rozpuštění cytoplazmatické membrány. Takto ošetřené kořeny byly následně promývány v jemném sítku.

V další fázi byl vzorek okyselen, a to 2% kyselinou mléčnou, která byla zahřívána v sušičce při 90°C přibližně 20 minut. Poté byla kyselina vylita ze vzorku a vzorek se zalil 0,05% roztokem trypanové modři v laktoglycerinu. Vzorek se opět zahříval 30 minut na 90°C v sušičce. Barva se vymyla pod tekoucí vodou a kořeny v lahvičkách byly zality laktoglycerinem pro uchování.

Kolonizace byla zhodnocena pomocí průsečíkové metody (Giovannetti, Mosse 1980). Průsečíková metoda v originále grid – line intersect method je zřejmě nejrozšířenější a také nejspolehlivější metodou při určování kolonizace kořenů mykorrhizními houbami (Gryndler 2004). Na vyznačenou čtvercovou síť v Petriho misce se náhodně rozloží kořeny. Petriho miska se vloží pod binokulární lupu a při zvětšení 20x - 100x se určuje přítomnost nebo nepřítomnost houbových struktur v místě průsečíku. Konkrétně při vyhodnocování tohoto pokusu bylo zvětšení čtyřicetinasobné.

Hodnotit by se mělo nejméně 100 průsečíků a pro větší přesnost by se měly kořeny na misce několikrát promíchat a znovu určit jejich kolonizace. Následně se vypočítá procento kolonizace podle vzorce:

$$\%C = 100 \frac{\sum (+)}{(\sum +) + \sum (-)} \quad (\text{Gryndler et al. 2004}).$$

V tomto pokusu bylo hodnoceno 100 průsečíků a procento kolonizace bylo určeno podle vzorce výše.

4. 5. Vliv půdních organismů na růst *Festuca rupicola* a *Koeleria macrantha*

Pro zjištění vlivu půdních organismů na růst rostlin byla v červenci roku 2014 z každé z 36 trvalých ploch odebrána půda o objemu 4 l. Půda byla pro srovnání odebrána také ze stepi. Protože step spadá do národní přírodní rezervace, byla hlína odebírána pouze z jednoho místa na hranici s výsypkou tak, abychom step co nejméně poškodili. Jednalo se o stejné místo, odkud byla odebrána půda po inokulaci ploch v terénu a pro studium semenné banky. Této půdy bylo odebráno 40 l. Půda byla drcena a přesívána přes síto.

Po tomto zpracování byla půda z každého stanoviště a stepi rozdělena na dvě poloviny. Jedna polovina (2 l z každé trvalé plochy a 20 l ze stepi) byla sterilizována γ zářením o hodnotě 28,4 kGy. Druhá polovina (2 l z každé trvalé plochy a 20 l ze stepi) byla ponechána v původním stavu, tedy bez sterilizace. Sterilní půda z výsypky byla rozdělena do dvou květináčků (po 1 litru v každém květináči) půda ze stepi byla rozdělena do 20 květináčů. Do jednoho květináče (do 10 u stepi) byla vyseta semínka *Koeleria macrantha* a do druhého (do 10 u stepi) *Festuca rupicola*. Ten samý postup

byl zopakován i s půdou nesterilní. Na konci tedy byly vždy 4 květináče s půdou z jedné trvalé plochy, a to sterilní a nesterilní varianta pro oba druhy rostlin. Celkem tedy 36 květináčů od kontrolních ploch z výsypky a 36 květináčů od inokulovaných ploch z výsypky, pro každý druh a variantu sterilizace. U stepi bylo 10 květináčů pro každý druh a typ ošetření.

Výběr *K. macrantha* a *F. rupicola* nebyl náhodný. Oba druhy se přirozeně vyskytují na výsypce lomu Čerínka a také na stepi a oba jsou schopné vytvářet AMS (Harley, Harley 1990; Veselkin 2012). Oba druhy rostlin patří do čeledi Poaceae. *F. rupicola* se objevila na výsypce Čerínka dříve, *K. macrantha* se objevila až v pozdějších stádiích sukcese a ještě stále se zde vyskytuje vzácněji než *F. rupicola* (Kuťáková 2013).

Aby bylo možné sledovat klíčivost těchto rostlin, byl do květináčů umisťován vždy ten samý počet semen. U *F. rupicola* to bylo 100 semen na květináč, u *K. macrantha* 200 semen na květináč. U *K. macrantha* bylo do květináčů vkládáno více semen, neboť vykazovala při zkoušce klíčivosti poměrně nízké počty vyklíčených rostlin.

Při zkoušce klíčivosti bylo vloženo do dvou Petriho misek 100 semen každého druhu (každý druh v jedné misce). Petriho misky byly následně umístěny do klimaboxu. Semenům byla průběžně doplňována destilovaná voda a po týdnu byla hodnocena jejich klíčivost.

Použitá semena nepocházela z lomu Čerínka, ale byla zakoupena u firmy Planta naturalis. Semena byla počítána ručně a následně byla vložena do sáčku z jemné tkaniny. Semena byla před vložením do květináčů desinfikována ponořením na 10 minut do 10% roztoku Sava. Následně byla semínka rozprostřena po povrchu půdy v květináči.

Přibližně po třech týdnech byla stanovena klíčivost v jednotlivých květináčích. Jedná se o podíl klíčících semen z celkového počtu všech semen. Za další dva týdny byla v truhlíku ponechána už jen jedna rostlina a ostatní byly vytrhány. Přibližně po třech měsících byly tyto rostliny sklizeny.

Podzemní biomasa byla promyta pod tekoucí vodou k uvolnění kořenů z půdy. Poté byla oddělena od biomasy nadzemní. Protože bylo u některých vzorků poměrně

málo kořenů, byla veškerá kořenová biomasa zvážena na analytických vahách a vložena do lahvíček s 10% roztokem KOH. Nadzemní biomasa byla uložena do papírových sáčků a sušena 5 dní 8 hodin denně na 60 °C.

Kořeny byly barveny a kolonizace byla vyhodnocována stejným způsobem jako u hodnocení MIPu.

4. 6. Statistické zpracování dat

Pro statistické zpracování dat byl využit program R 3. 1. 3., program Microsoft Excel office 2007 a Canoco 5.

Pro analýzu půdních podmínek byl použit zobecněný lineární model s normálním rozdělením a analýza byla provedena v programu R. Za účelem normalizace dat byly hodnoty obsahu P a Mg v půdě odmocněny.

Pro testování efektu vzdálenosti, transektu a interakce vzdálenosti a transektu na MIP byl využit zobecněný lineární model s binomickým rozdělením. Pro testování vlivu vzdálenosti, transektu a interakce vzdálenosti a transektu na množství nadzemní, podzemní biomasy a poměru nadzemní a podzemní biomasy byl použit zobecněný lineární model s normálním rozdělením. Testování bylo provedeno v programu R.

Pro zhodnocení vlivu půdního inokula na druhové složení byla provedena RDA analýza. Vyloučeny byly rostliny, které měly méně než tři výskyty. Délka gradientu v datech byla menší než 3, a proto jsme použili lineární analýzu. Testovali jsme v ní interakci času a zásah (inokulace). Jako kovariáta byl použit čas, zásah a kód plochy. K testování byl použit Monte Carlo permutační test. Whole ploty (jednotlivé trvalé plochy) i split ploty (jednotlivé záznamy trvalých ploch) byly plně randomizovány. Kromě analýzy bez standardizace byla provedena RDA analýza standardizovaná přes druhy a analýza standardizovaná přes plochy.

Ve skleníkovém pokusu při testování klíčivosti byl vždy použit zobecněný lineární model s Poissonovým rozdělením. Pro testování biomasy ve skleníkovém pokusu byl použit zobecněný lineární model s normálním rozdělením. Hodnoty vyprodukované nadzemní a podzemní biomasy byly za účelem normalizace dat odmocněny. Poměr podzemní ku nadzemní biomase byl z toho samého důvodu

zlogaritmován. Pro testování kolonizace byl použit zobecněný lineární model s binomickým rozdělením.

5. Výsledky

5. 1. Půdní podmínky

Analýza půdních podmínek byla vytvořena hlavně kvůli zhodnocení jejich případného vlivu na MIP a množství vyprodukované biomasy. Data pro analýzu byla pro step a vzdálenost 10, 30 a 50 m převzata od E. Kuťákové. Data pro analýzu půdy ze stometrové vzdálenosti pochází z mých odběrů. Analýza všech vzorků byla provedena v Botanickém ústavu AV ČR.

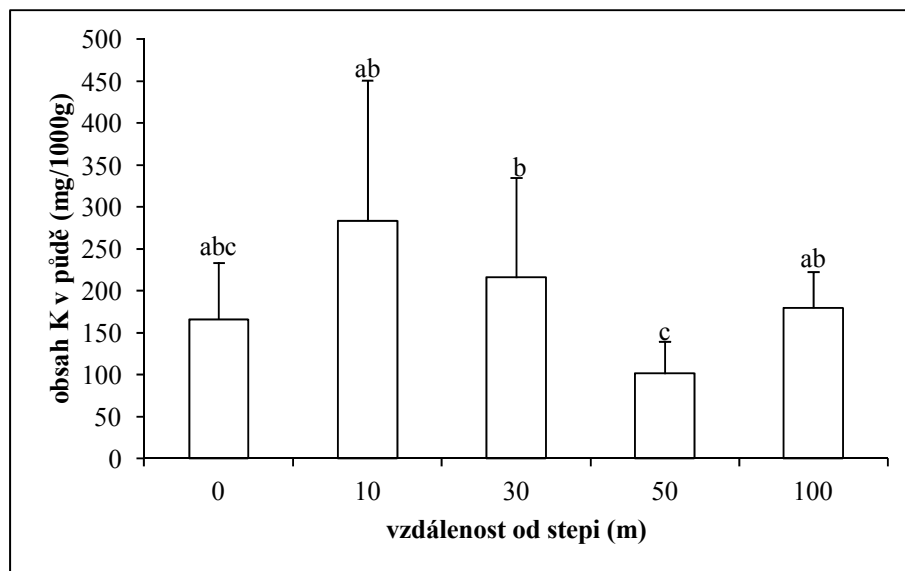
Při testování půdních podmínek jsme se zaměřili na rozdíly mezi stepí a výsypkou a také jsme se snažili zjistit, zda se půdní podmínky liší v závislosti na vzdálenosti od stepi. Došli jsme k následujícím výsledkům:

Tab. č. 3. Vliv původu půdy a vzdálenosti od stepi na obsah živin a pH testován za pomoci GLM s normálním rozdělením. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

	step/výsypka		vzdálenost od stepi	
	df error	28	df error	25
C	df	1	df	4
	F value	1,347	F value	1,385
	p	0,255	p	0,268
Ca	df	1	df	4
	F value	0,572	F value	2,235
	p	0,456	p	0,094
K	df	1	df	4
	F value	0,330	F value	2,689
	p	0,570	p	0,054
Mg	df	1	df	4
	F value	2,270	F value	2,888
	p	0,143	p	0,043
N	df	1	df	4
	F value	8,121	F value	6,326
	p	0,008	p	0,001
P	df	1	df	4
	F value	0,414	F value	6,006
	p	0,525	p	0,002
pH (H ₂ O)	df	1	df	4
	F value	52,561	F value	15,505
	p	<0,001	p	<0,001

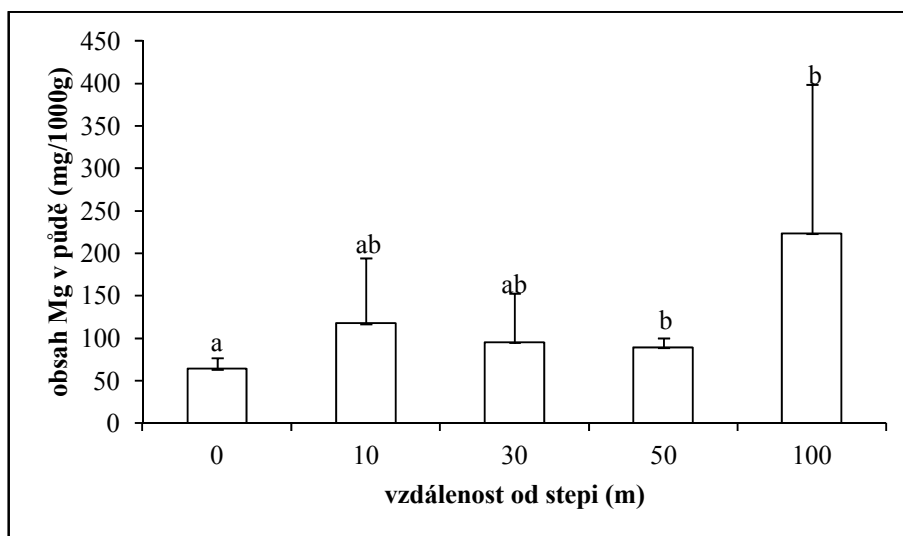
Rozdíly v obsahu draslíku mezi stepí a výsypkou nebyly prokázány. Změny v množství draslíku v závislosti na vzdálenosti od stepi vyšly pouze marginálně signifikantně (viz Tab. č. 3).

Graf č. 1. Obsah K v jednotlivých vzdálenostech od výsypky (step=0). Graf zobrazuje průměrný obsah K v půdě a směrodatnou odchylku.



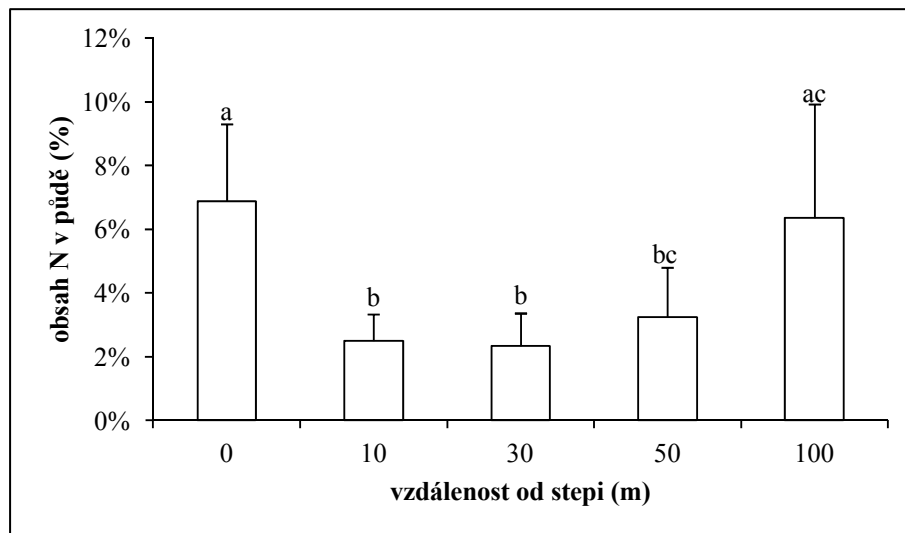
U Mg byla marginálně signifikantně prokázána změna obsahu v závislosti na vzdálenosti od stepi, neprokázali jsme však rozdíl v obsahu Mg mezi stepí a výsypkou (viz Tab. č. 3).

Graf č. 2. Obsah Mg v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrný obsah Mg v půdě a směrodatnou odchylku.



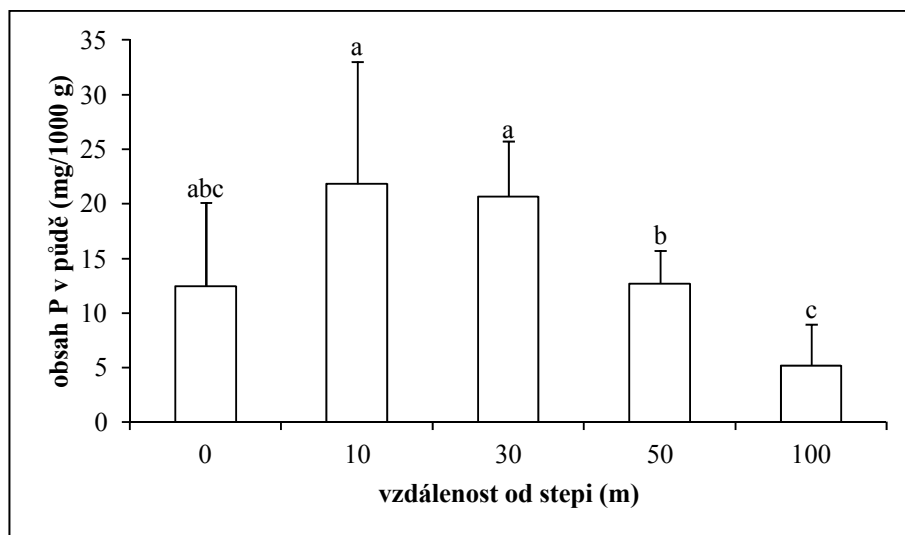
U N byla prokázána jak jeho změna v závislosti na vzdálenosti od stepi, tak rozdíl v obsahu mezi stepí a výsypkou (viz Tab. č. 3).

Graf č. 3. Obsah N v půdě v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrný obsah N v půdě a směrodatnou odchylku.



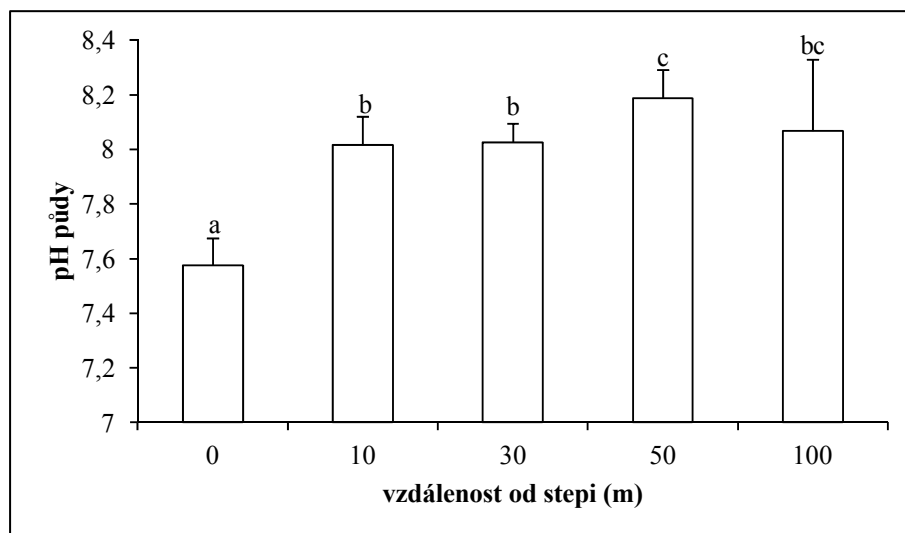
Obsah P se neliší mezi stepí a výsypkou, ale v závislosti na vzdálenosti od stepi (viz Tab. č. 3).

Graf č. 4. Obsah P v půdě jednotlivých vzdálenostech od stepi (step= 0). Graf zobrazuje průměrný obsah P v půdě a směrodatnou odchylku.



pH se signifikantně liší jak mezi stepí a výsypkou, tak v závislosti na vzdálenosti od stepi (viz Tab. č. 3)

Graf č. 5. pH půdy v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrnou hodnotu pH a směrodatnou odchylku.



5. 2. Inokulace trvalých ploch půdou

První kontrolní odečet byl proveden přibližně po 9 měsících od inokulace trvalých ploch půdou. Po provedení RDA analýzy lze říci, že ještě nelze sledovat změny ve vegetaci na inokulovaných plochách ($P=0,724$; $F=0,524$). Stejného výsledků jsme dosáhli u RDA analýzy standardizované přes druhy ($P=0,779$; $F=0,802$) i přes plochy ($P=0,802$; $F=0,779$).

5. 3. Mykorhizní inokulační potenciál a vyprodukovaná biomasa

Testován byl vliv vzdálenosti od stepi, transektu a interakce vzdálenosti a transektu na mykorhizní inokulační potenciál, množství nadzemní a podzemní biomasy a také na poměr nadzemní a podzemní biomasy s následujícími výsledky:

Tab. č. 4. Vliv vzdálenosti a transektu na MIP, množství nadzemní biomasy, podzemní biomasy a poměr R/S testován za pomoci GLM s binomickým rozdělením. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

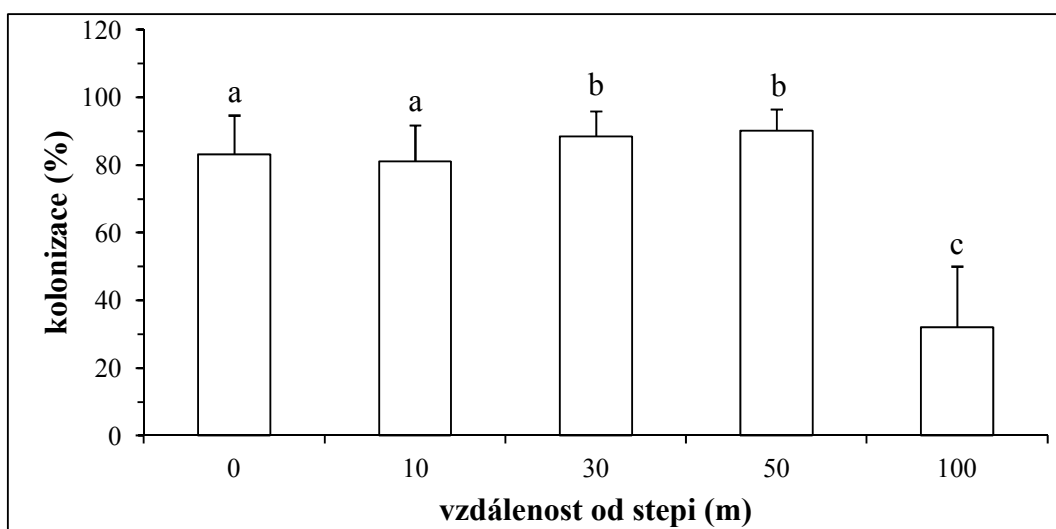
		MIP	nadzemní biomasa	podzemí biomasa	poměr R/S
	df error	147	147	147	147
vzdálenost	df	4	4	4	4
	dev	8530,80	7,59	0,23	4,89
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
transekt	df	5	5	5	5
	dev	254,6	1,66	0,09	0, 64
	p	<0,001	< 0,001	< 0,030	0,070
vzdálenost*transekt	df	20	20	20	20
	dev	424,90	10, 86	0,70	3,08
	p	0,020	< 0,001	< 0,001	< 0,001

5. 3. 1. Mykorhizní inokulační potenciál

Dle výsledků lze říci, že mykorhizní inokulační potenciál je ovlivněn vzdáleností od stepi (viz Tab. č. 4). Z grafu č. 6 je patrné, že vztah mezi vzdáleností od stepi a kolonizací není lineární. Kolonizace kořenů se významně neliší mezi půdou ze stepi a půdou ze vzdálenosti 10 m. Půda ze vzdálenosti 30 m a 50 m vykazuje taktéž podobnou kolonizaci kořenů a dosahují nejvyšších průměrných hodnot. Od všech ostatních vzdáleností se odlišuje půda ze 100 m, jež vykazuje nejnižší kolonizaci kořenů AMF.

Prokázána byla také závislost MIPu na transektu. Společný vliv vzdálenosti a transektu vyšel též signifikantně (viz Tab. č. 4).

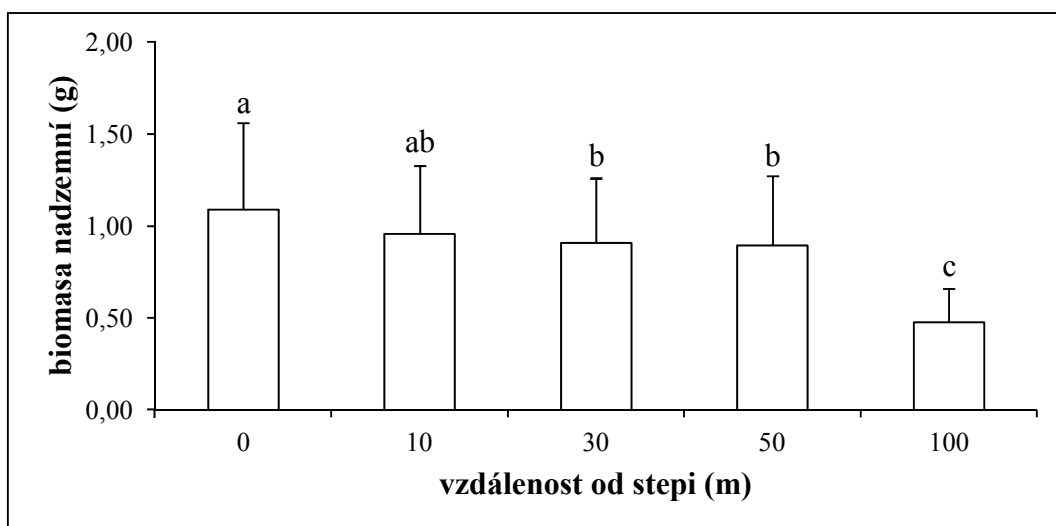
Graf č. 6: MIP půdy v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrnou kolonizaci a směrodatnou odchylku.



5. 3. 2. Množství vyprodukované biomasy

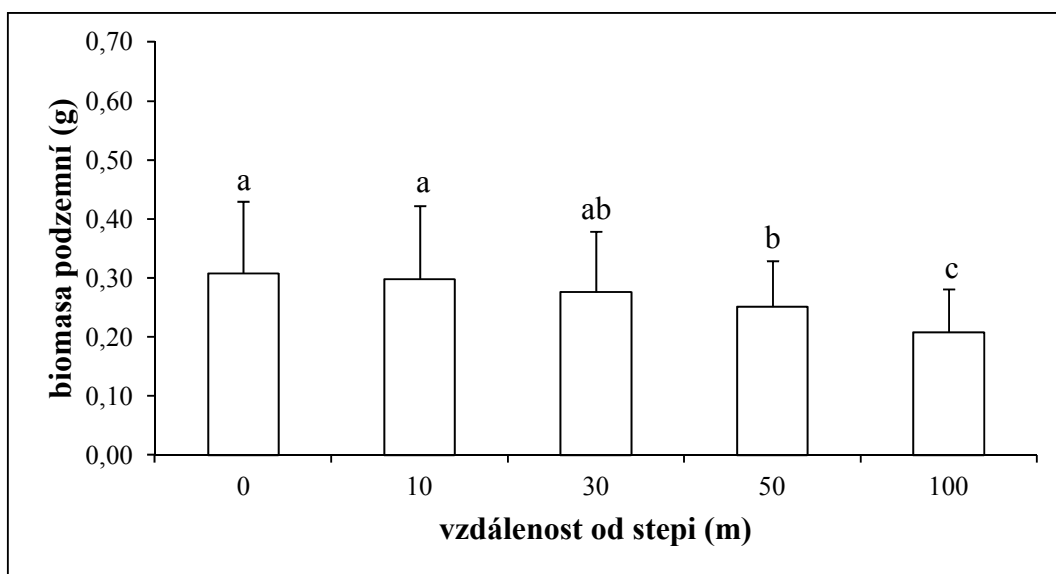
Množství vyprodukované nadzemní biomasy rostlin kukuřice je průkazně závislé jak na vzdálenosti od stepi, tak na transektu a také na interakci vzdálenosti a transektu (viz Tab. č. 4). Množství vyprodukované biomasy se dle grafu č. 7 významně neliší mezi stepí a desetimetrovou vzdáleností. Nejnížší průměrné hodnoty nadzemní biomasy jsou prokázány u rostlin pěstovaných na půdě ze vzdálenosti 100 m. Významně se neliší nadzemní biomasa rostlin pěstovaných ve vzdálenosti 10, 30 a 50 m. Nejvyšší průměrnou hodnotu nadzemní biomasy vykazují rostliny pěstované na půdě ze stepi.

Graf č. 7. Množství vyprodukované nadzemní biomasy v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrné množství nadzemní biomasy a směrodatnou odchylku.



U podzemní biomasy byl prokázán významný vliv vzdálenosti a interakce vzdálenosti a transektu na množství vyprodukované podzemní biomasy. Vliv transektu byl také průkazný (viz Tab. č. 4). Množstvím vyprodukované biomasy se významně neliší rostliny pěstované na půdě ze stepi a ze vzdálenosti 10 a 30 m. Biomasa kukuřice pěstovaných na půdě ze vzdálenosti 30 m se neliší od biomasy z 50 m. Kukuřice pěstované na půdě pocházející ze vzdálenosti 100 m od výsypky vykazují nejnižší hodnoty podzemní biomasy (viz Graf č. 8).

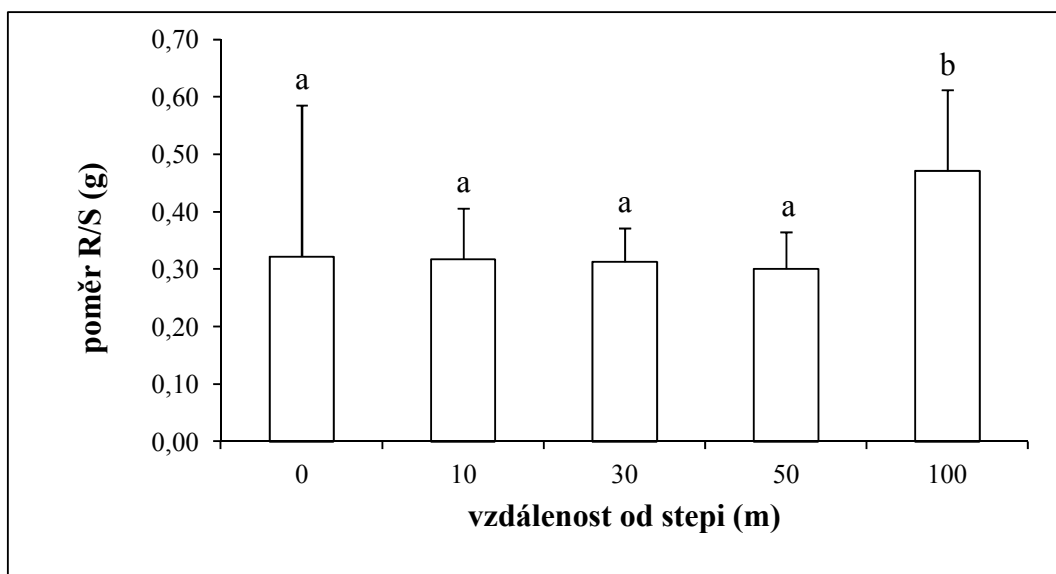
Graf č. 8. Množství vyprodukované podzemní biomasy v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrné množství podzemní biomasy a směrodatnou odchylku.



Poměr podzemní a nadzemní biomasy je ovlivněn jak vzdáleností od stepi, tak interakcí vzdálenosti a transektu. Jako neprůkazný se ukázal vliv samotného transektu na poměr nadzemní a podzemní biomasy (viz Tab. č. 4).

Z grafu č. 9 lze vyvodit, že se výrazně odlišuje poměr R/S u rostlin pěstovaných na půdě ze vzdálenosti 100 m. Dosahuje nejvyšších hodnot. Poměry R/S u ostatních vzdáleností se od sebe neliší.

Graf č. 9. Poměr R/S v jednotlivých vzdálenostech od stepi (step=0). Graf zobrazuje průměrné množství R/S a směrodatnou odchylku.



5. 4. Hodnocení vlivu půdních organismů na růst *Festuca rupicola* a *Koeleria macrantha*

V této části jsme testovali, jaké faktory ovlivňují klíčivost, množství vyprodukované biomasy a kolonizaci kořenů u jednotlivých druhů rostlin ve skleníkovém pokusu.

5. 4. 1. Hodnocení klíčivosti

Testovali jsme, zda se klíčivost liší mezi použitými rostlinnými druhy, zda se klíčivost liší mezi sterilní a nesterilní půdou či mezi stepí a výsypkou. Dále jsme testovali, zda má na klíčivost vliv některá z interakcí uvedených proměnných (viz Tab. č. 5).

Tab. č. 5. Vliv rostlinného druhu, původu půdy a typu ošetření na klíčivost testován za pomoci GLM s Poissonovým rozdělením. Df error 170. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

	dev	p
rostlinný druh	447,09	<0,001
sterilní/nesterilní	0,08	0,773
step/výsypka	2,07	0,150
rostlinný druh*sterilní/nesterilní	15,19	<0,001
rostlinný druh*step/výsypka	25,09	<0,001
sterilní/nesterilní*step/výsypka	0,44	0,509
rostlinný druh*sterilní/nesterilní*step/výsypka	1,37	0,242

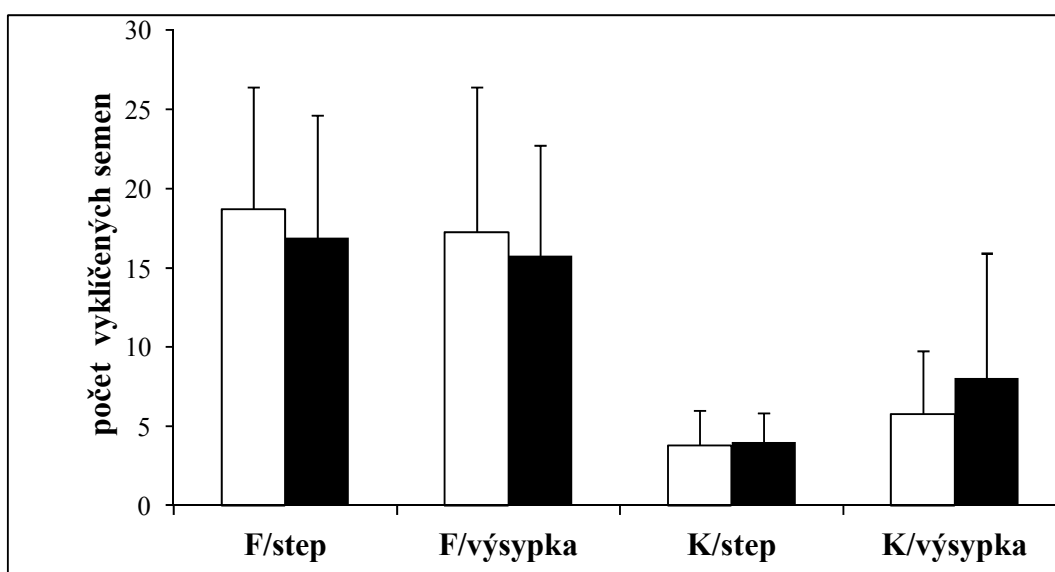
Z tabulky č. 5 vyplývá, že klíčivost rostlin se lišila mezi dvěma použitými druhy rostlin. Klíčivost rostlin byla ovlivněna druhem rostliny v interakci s typem ošetření, stejně jako se lišila v závislosti na druhu a na tom, zda byla pěstována na půdě z výsypky, či ze stepi. Interakce sterilizace*step/výsypka a rostlina*sterilizace*step/výsypka nebyla prokázána.

Tab. č. 6. Vliv původu půdy a typu ošetření na klíčivost jednotlivých druhů testován za pomoci GLM s Poissonovým rozdělením. U obou druhů df error 85. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

		dev	p
<i>Festuca rupicola</i>	sterilní/nesterilní	3,20	0,074
	step/výsypka	1,51	0,219
	sterilní/nesterilní* step/výsypka	0,01	0,930
<i>Koeleria macrantha</i>	sterilní/nesterilní	12,20	<0,001
	step/výsypka	25,51	<0,001
	sterilní/nesterilní* step/výsypka	1,80	0,179

Z grafu č. 10 je patrné, že semena *Festuca rupicola* klíčí lépe než semena *Koeleria macrantha*, a to jak na půdě ze stepi, tak na půdě z výsypky. Klíčivost semen *F. rupicola* příliš nereaguje na půdu, ve které je pěstována. I když u *F. rupicola* nebyla prokázána závislost klíčivosti na tom, zda byla půda sterilní či nikoliv (Tab. č. 6), z grafu č. 10 vyplývá, že klíčila o něco lépe na sterilní půdě. Klíčivost *K. macrantha* byla ovlivněna původem půdy i typem ošetření půdy (viz Tab. č. 6). *K. macrantha* klíčila lépe na nesterilní půdě. Semena *K. macrantha* vykazují lepší klíčivost na půdě z výsypky (viz Graf č. 10).

Graf č. 10. Vliv druhu, původu půdy a typu ošetření na počet vyklíčených semen. Graf zobrazuje průměrný počet vyklíčených semen a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*; bílý sloupec=sterilní, černý sloupec= nesterilní



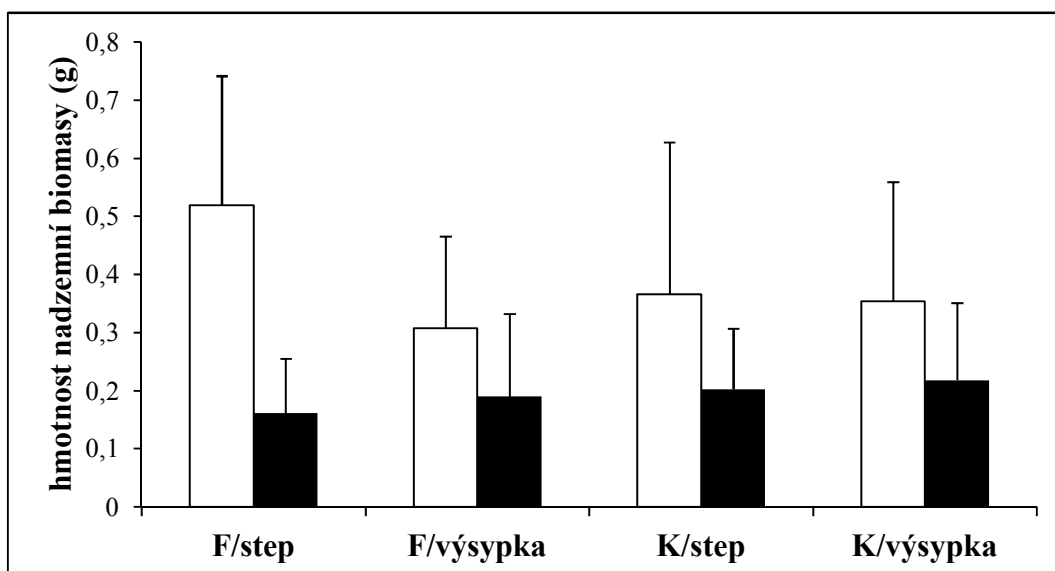
5. 4. 2. Množství vyprodukované biomasy

Testovali jsme, na jakých faktorech je závislé množství vyprodukované biomasy.

Tab. č. 7. Vliv rostlinného druhu, původu půdy a typu ošetření na množství vyprodukované nadzemní biomasy, podzemní biomasy a poměr R/S testován za pomoci GLM s normálním rozdělením. U všech df error164. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

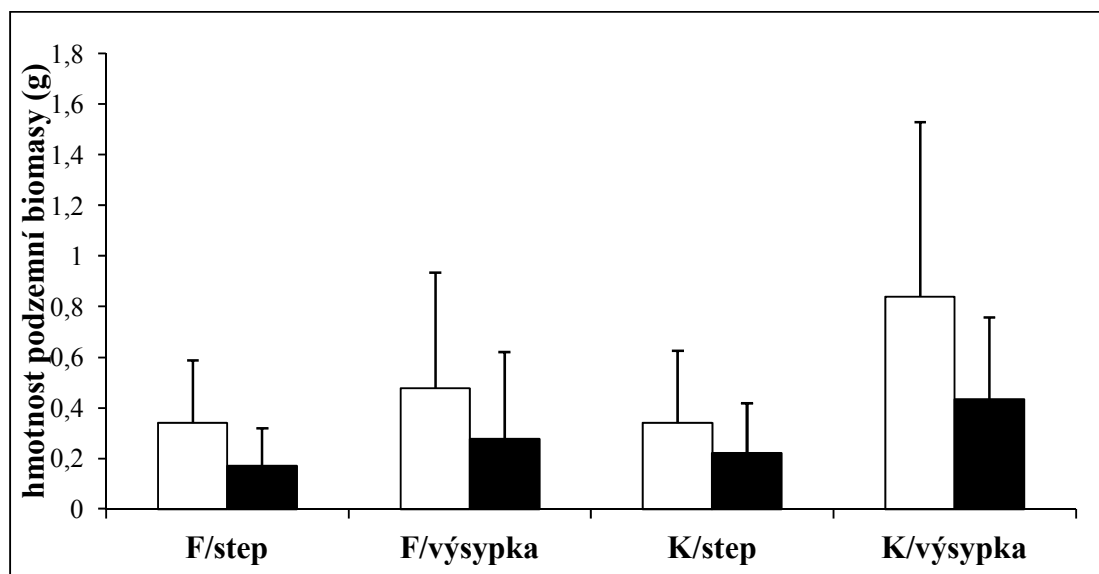
	nadzemní biomasa		podzemní biomasa		poměr R/S	
	dev	p	dev	p	dev	p
rostlinný druh	0,01	0,581	0,97	0,001	11,21	<0,001
sterilní/nesterilní	0,95	<0,001	1,52	<0,001	1,22	0,243
step/výsypka	0,05	0,170	0,74	0,005	15,62	<0,001
rostlinný druh* sterilní/nesterilní	0,02	0,385	0,02	0,638	0,12	0,710
rostlinný druh* step/výsypka	0,03	0,263	0,18	0,158	1,03	0,283
sterilní/nesterilní* step/výsypka	0,08	0,086	0,02	0,670	0,44	0,482
rostlinný druh* sterilizace*step/výsypka	0,06	0,147	0,03	0,569	0,26	0,589

Graf č. 11. Vliv druhu, původu půdy a ošetření na množství vyprodukované nadzemní biomasy. Graf zobrazuje průměrnou hodnotu množství nadzemní biomasy a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*; bílý sloupec=sterilní, černý sloupec= nesterilní



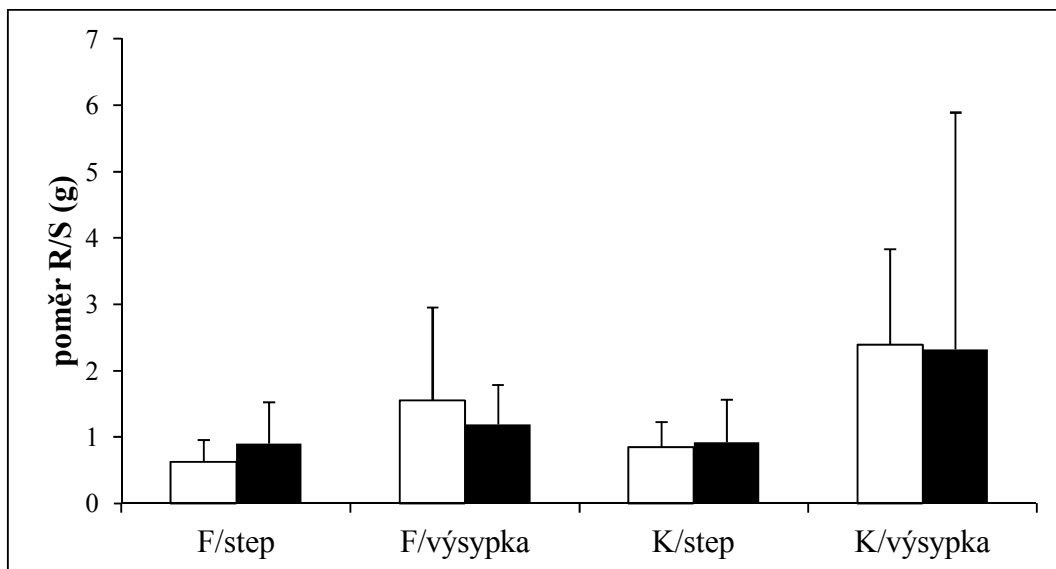
Z tabulky č. 7 vyplývá, že množství vyprodukované nadzemní biomasy se významně liší mezi rostlinami pěstovanými na sterilním substrátu a těmi, které byly pěstované na nesterilním substrátu. Ostatní faktory ani jejich interakce neměly vliv na množství nadzemní biomasy. *F. rupicola* produkuje více nadzemní biomasy na sterilní půdě, a to jak ze stepi, tak z výsypky. Ten samý trend vykazuje i *K. macrantha* (viz Graf č. 11).

Graf č. 12. Vliv druhu, původu půdy a ošetření na množství vyprodukované nadzemní biomasy. Graf zobrazuje průměrnou hodnotu množství nadzemní biomasy a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*; bílý sloupec=sterilní, černý sloupec= nesterilní



Větší množství vyprodukované podzemní biomasy lze pozorovat u sterilního substrátu (viz Graf č. 12). Množství podzemní biomasy se liší průkazně v závislosti na druhu rostliny a také mezi sterilní a nesterilní půdou. Prokázána byla také závislost v množství biomasy na tom, zda byla pěstována na půdě ze stepi či z výsypky (viz Tab. č. 7). Podzemní biomasa dosahuje u obou druhů rostlin většího množství na výsypce než na stepi (viz Graf č. 12). U ostatních faktorů nebyl prokázán jejich vliv (viz Tab. č. 7).

Graf č. 13. Vliv druhu, původu půdy a ošetření na množství na poměr R/S. Graf zobrazuje průměrnou hodnotu poměru R/S a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*; bílý sloupec=sterilní, černý sloupec= nesterilní



Poměr nadzemní a podzemní biomasy se liší mezi námi zvolenými rostlinnými druhy (viz Tab. č. 7). *K. macrantha* dosahuje vyšších hodnot poměru R/S. Tento poměr se liší také v závislosti na tom, zda byly rostliny pěstovány na půdě ze stepi nebo z výsypky. Půda ze stepi vykazuje u obou druhů nižší R/S (viz Graf č. 12). Vliv ostatních faktorů nebyl prokázán (viz Tab. č. 7).

5. 4. 3. Kolonizace kořenů

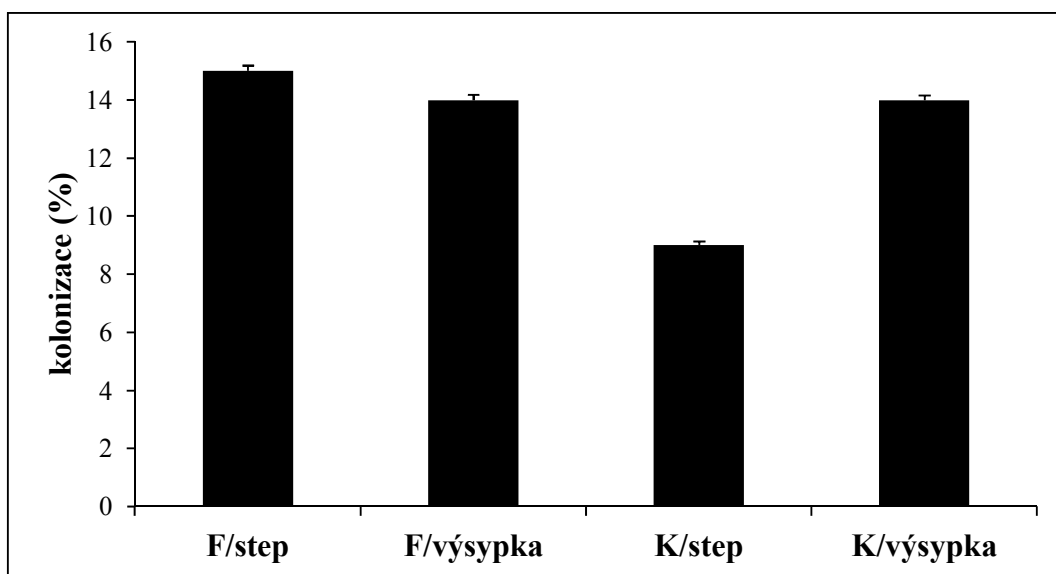
Tab. č. 8. Vliv rostlinného druhu a původu půdy na kolonizaci kořenů testován za pomoci GLM s binomickým rozdělením. Df error 81.

	dev	p
rostlinný druh	16,43	<0,001
step/výsypka	11,84	<0,001
rostlinný druh* step/výsypka	13,56	<0,001

Ve sterilní půdě byly kořeny ve všech případech zcela bez kolonizace. Kolonizace kořenů se prokazatelně liší mezi rostlinnými druhy, taktéž mezi stepí a výsypkou i v interakci těchto faktorů (viz Tab. č. 8). Z grafu č. 14 vyplývá, že *F.*

rupicola je rostlinným druhem s vyšší kolonizací kořenů v porovnání s *K. macrantha*. Z grafu č. 14 taktéž vyplývá, že kolonizace *F. rupicola* se velmi neliší mezi půdou ze stepi a z výsypky. Větší rozdíly jsou viditelné u *K. macrantha*, s vyšší kolonizací na půdě z výsypky.

Graf č. 14. Vliv druhu a původu půdy na kolonizaci kořenů. Graf zobrazuje průměrné procento kolonizace a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*



5. 4. 4. Klíčivost, kolonizace a růst – vliv inokulace

V předchozích výsledcích není zohledněn vliv inokulace půdou ze stepi, která byla aplikována na polovinu trvalých ploch. Test vlivu inokulace v datech z výsypky ukázal, že inokulace půdou neměla vliv na množství vyprodukované nadzemní biomasy ($p=0,875$), podzemní biomasy ($p=0,156$), poměru R/S ($p=0,147$) a kolonizaci ($p=0,978$). Taktéž žádná z interakcí u inokulace nevyšla signifikantně. Rozdíl mezi inokulovanými plochami a plochami kontrolními se projevil u klíčivosti ($p<0,001$). Žádná z interakcí u klíčivosti nevyšla signifikantně. Z dat byly vyřazeny hodnoty ze stepi, neboť zde se nenachází žádné trvalé plochy.

Proto jsme testovali, zda se projeví vliv druhu, typu ošetření a původu půdy, pokud z dat vyřadíme inokulované plochy a otestujeme pouze plochy kontrolní a step s následujícím výsledkem:

Tab. č. 9. Vliv rostlinného druhu, původu půdy a typu ošetření na klíčivost s vyřazením inokulovaných ploch testován za pomoci GLM s Poissonovým rozdělením. Df error 98. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

	dev	p
rostlinný druh	324,24	<0,001
sterilní/nesterilní	0,04	0,841
step/výsypka	8,47	0,004
rostlinný druh*sterilní/nesterilní	8,55	0,004
rostlinný druh*step/výsypka	20,23	<0,001
sterilní/nesterilní*step/výsypka	0,62	0,430
rostlinný druh*sterilní/nesterilní*step/výsypka	1,34	0,247

Testovali jsme také vliv druhu, typu ošetření a původu půdy, pokud z dat vyřadíme kontrolní plochy a otestujeme pouze plochy inokulované a step s následujícím výsledkem:

Tab. č. 10. Vliv rostlinného druhu, původu půdy a typu ošetření na klíčivost s vyřazením kontrolních ploch testován za pomoci GLM s Poissonovým rozdělením. Df error 103. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

	dev	p
rostlinný druh	296,56	<0,001
sterilní/nesterilní	0,08	0,783
step/výsypka	0,06	0,809
rostlinný druh*sterilní/nesterilní	6,38	0,012
rostlinný druh*step/výsypka	22,14	<0,001
sterilní/nesterilní*step/výsypka	0,26	0,609
rostlinný druh*sterilní/nesterilní*step/výsypka	1,00	0,318

Pokud srovnáme Tab. č. 9 a Tab. č. 10, můžeme vidět, že klíčivost se liší mezi druhy, což je v souladu s výsledky klíčivosti uvedenými za všechny plochy (Tab. č. 5). Po vyřazení kontrolních ploch (Tab. č. 10) se nicméně ukazuje, že inokulací jsme, alespoň co se týče klíčivosti, částečně smazali rozdíly mezi stepí a výsypkou. V Tab. č.

9 totiž vychází průkazně rozdíl klíčivosti mezi stepí a výsypkou, v Tab. č. 10 ale nikoliv. Z důvodu průkazných interakcí s druhem jsme také testovali, jak je ovlivněna klíčivost u jednotlivých druhů rostlin s vyřazením dat z kontrolních ploch nebo ploch inokulovaných.

Tab. č. 11. Vliv původu půdy a typu ošetření na klíčivost testován za pomoci GLM s Poissonovým rozdělením. Průkazné hodnoty $p < 0,05$ jsou tučně.

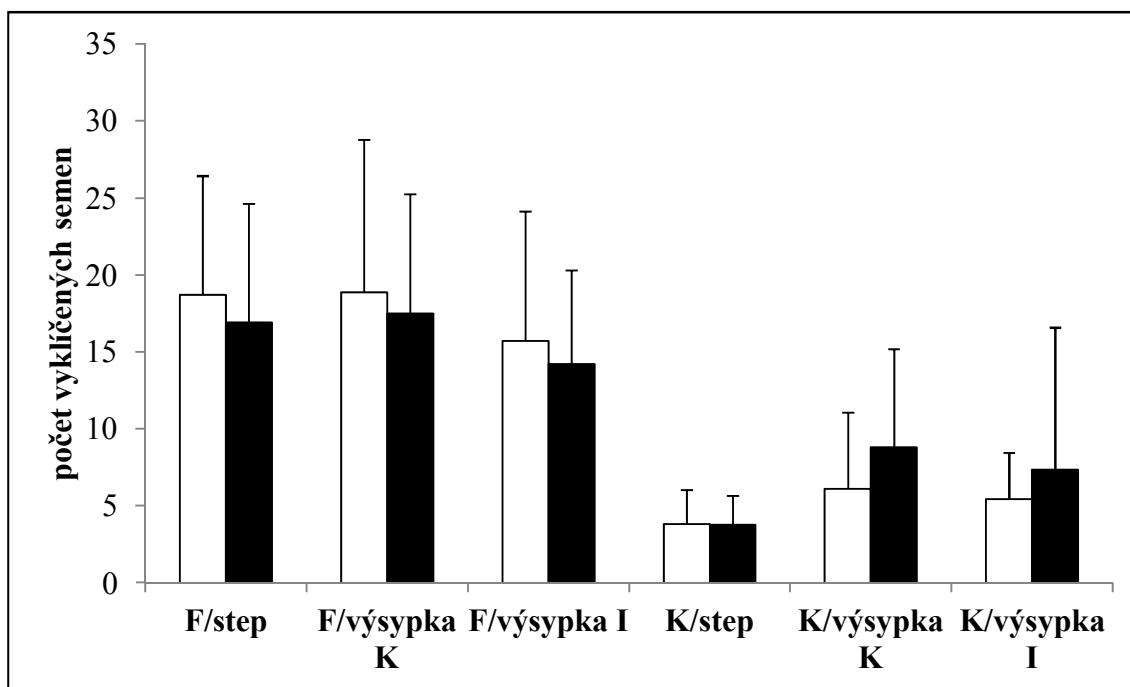
			df error	dev	p
<i>Festuca rupicola</i>	Výsypka Inokulace + Step	sterilní/nesterilní	52	2,26	0,132
		step/výsypka		6,33	0,011
		sterilní/nesterilní* step/výsypka		0,00	0,994
<i>Festuca rupicola</i>	Výsypka Kontrola+ Step	sterilní/nesterilní	49	1,75	0,185
		step/výsypka		0,10	0,747
		sterilní/nesterilní* step/výsypka		0,04	0,859
<i>Koeleria macrantha</i>	Výsypka Inokulace + Step	sterilní/nesterilní	51	4,18	0,041
		step/výsypka		15,88	<0,001
		sterilní/nesterilní* step/výsypka		1,26	0,262
<i>Koeleria macrantha</i>	Výsypka Kontrola+ Step	sterilní/nesterilní	49	7,13	0,008
		step/výsypka		28,31	<0,001
		sterilní/nesterilní* step/výsypka		1,93	0,165

Klíčivost u *K. macrantha* je ovlivněna původem půdy (Tab. č. 11). Klíčivost se liší mezi stepí a výsypkou, což je v souladu s výsledky testu klíčivosti za všechny plochy (viz Tab č. 6.). Z grafu č. 15 nicméně vyplývá, že *K. macrantha* klíčí nejlépe na kontrolních plochách a aplikace půdního inokula klíčivost snížila. Nejnižší klíčivosti dosahuje tento druh na stepi.

F. rupicola v celkovém testu klíčivosti nereagovala na původ půdy (viz Tab. č. 6). Ten samý výsledek se projevil u testu ploch kontrolních a stepi. Rozdíl mezi stepí a

výsypkou se projevil u ploch inokulovaných a stepi (viz Tab. č. 11). Z grafu č. 15 vyplývá, že inokulací byla klíčivost u *F. rupicola* snížena.

Graf č. 15. Vliv druhu, původu půdy a typu ošetření na počet vyklíčených semen. Graf zobrazuje průměrný počet vyklíčených semen a směrodatnou odchylku. F=*Festuca rupicola*, K=*Koeleria macrantha*; bílý sloupec=sterilní, černý sloupec= nesterilní; výsypka K=kontrolní plochy na výsypce, výsypka I=inokulované plochy na výsypce



6. Diskuze

6. 1. Inokulace půdou

Z prvního odečtu vegetace na inokulovaných a neinokulovaných plochách nelze zatím pozorovat rozdíly v druhovém složení mezi těmito plochami. Tento jev lze zřejmě přičíst krátkému období mezi samotnou inokulací a odečtem vegetace. Titus, del Molar (1998) také nepozorovali ani po dvou letech vliv půdního inokula na růst vybraných druhů rostlin. Ti tuto skutečnost připisují extrémně chudým půdním podmínkám, nebo pak malému výskytu mykorhizních rostlin.

Záznamy z literatury napovídají, že bychom mohli na výsypce lomu Čeřinka pozorovat výměnu rostlin vyskytujících se v prvních fázích sukcese za později se objevující druhy (např. Kardol et al. 2006, Rowe et al. 2007). Middleton, Bever (2012) pozorovali po inokulaci půdou pocházející z travního společenstva pozitivní efekt na pozdně sukcesní druhy a negativní efekt inokulace na druhy dříve se vyskytující, a to už po jednom roce. Stejný efekt, tedy zhoršený růst v sukcesi dříve se vyskytujících druhů a zlepšení růstu pozdně sukcesních druhů, pozoruje i Rowe et al. (2007) ve skleníkovém pokusu s použitím půdního inokula na horských družích travin. Obdobné výsledky jsou pozorovány i v sekundární sukcesi u travních společenstev (Kardol et al. 2006; Carbajo et al. 2011). Middleton, Bever (2012) navíc upozorňuje, že aplikace inokula nemá vliv jen na plochu, která byla přímo inokulována, ale i na rostlinné společenstvo nacházející do 1 m od inokulované plochy, což by snižovalo množství půdy potřebné k využití pro rekultivační projekty.

Dalším způsobem, jak lze v terénu zkoumat vliv mykorhizních hub na rostlinné společenstvo, je použití fungicidu, a to i v prvních fázích sukcese vegetace (Gange et al. 1990, Gange et al. 1993). Ve sledovaném území jsou vymezeny pokusné plochy. Na jednu polovinu z nich se opakovaně v průběhu několika týdnů nanáší fungicid např. benomyl. Druhá polovina ploch však zůstává bez ošetření. Následně je porovnáváno druhové složení rostlinného společenstva u ploch fungicidem ošetřených a neošetřených (Gange et al. 1993; Šmilauer, Šmilauerová 2000). V těchto studiích autoři dokládají snížení počtu druhů a hustotou krytu, který jednotlivé druhy vytváří. Nevýhodou této metody jsou vedlejší účinky spojené s použitím fungicidu jako například změny

ve vlastnostech půdy jako koncentrace živin, nebo pH (Fitter, Nichols 1988). Také ostatní houby, ať už parazitické, nebo saprotrófní mohou být ovlivněny aplikací fungicidu a je zde tedy možnost, že rostliny reagují také na snížení počtu těchto hub v půdě (Gange et al. 1993). Stejně tak může použití fungicidu ovlivnit množství bakterií nebo houbami se živících nematod (Smith et al. 2000). Aplikace fungicidu je metodický přístup, který je vhodný spíše v již ustanovených společenstev, a proto nebyl v mém pokusu použit.

6. 2. Mykorhizní inokulační potenciál a množství vyprodukované biomasy

MIP se mění v závislosti na vzdálenosti od stepi. Stejného výsledku bylo dosaženo, i když jsme z dat pro analýzu vyřadili hodnoty pocházející ze vzdálenosti 100 m, která vykazuje výrazně odlišné hodnoty od ostatních vzdáleností. Vztah mezi vzdáleností od stepi a hodnotami kolonizace není lineární. Průměrné hodnoty na stepi a ve vzdálenosti 10 m dosahují kolonizace přes 80%, ve vzdálenosti 30 a 50 m přes 90%. Výjimku tvoří stometrová vzdálenost s průměrnou kolonizací okolo 30%. I přes to, že se na stepi nachází z hlediska sukcese rostlin nejvyvinutější a také nejstarší společenstvo, kolonizace nevykazuje nejvyšší hodnoty. Tento výsledek je v souladu s prací Oehl et al. (2011), kdy nejstarší sledované rostlinné společenstvo sice obsahovalo nejvíce mykorhizních druhů a mělo nejdelší délku hyf, ale z hlediska kolonizace nedosahovalo nejvyšších hodnot. Zdá se totiž, že společenstvo AMF se liší v závislosti na staří lokality, lépe řečeno liší se mezi stupni vývoje stanoviště (Martínez-García et al. 2014). Stejný výsledek byl pozorován i v sekundární sukcesi, kdy lze identifikovat druhy AMF objevující se v prvních fázích sukcese a druhy pozdně sukcesní (Johnson et al. 1991).

Podobné hodnoty MIPu jako u stepi vykazuje vzdálenost 10 m. Tento jev může být způsoben šířením AM hub ze stepi na výsypku. Mohlo by k tomu docházet prostřednictvím mycelia. Šíření pomocí mycelia se objevuje až v pozdějších stádiích vývoje, kdy je pozorována vyšší hustota rostlinného krytu (Jumpponen 2005). Tímto způsobem by se podle Oehl et al. (2011) měly šířit specializovanější pomaleji rostoucí druhy AMF, zatímco druhy méně specializované rychle rostoucí druhy se měly šířit

hlavně větrem. Nejvyšších hodnot kolonizace bylo dosaženo v půdě ve vzdálenosti 30 a 50 m, již lze vysvětlit jiným složením AMF oproti stepi a vzdálenosti 10 m. Houby, které se zde vyskytují, jsou patrně r-stratégové s velkou rychlostí růstu a tedy kolonizací kořenů (Johnson et al. 1991).

Nejnižších hodnot kolonizace dosahovaly kořeny z půdy ze sta metrů. Je otázkou, zda tato lokalita není již příliš vzdálena od zdroje spor mykorhizních hub, kterým je podle nás stepní společenstvo. Zdá se, že spory mykorhizních hub se ale dokážou šířit (alespoň v aridních ekosystémech) až 2 km daleko. Dalším důležitým vektorem jsou zvířata, nicméně neexistuje příliš studií, které by se zabývaly touto problematikou. Jiní autoři se domnívají, že problém není v šíření mykorhizních hub, ale v tom, že se některé druhy nedokážou uchytit v prostředí, které se významně liší od prostředí, ze kterého pochází (Allen et al. 1989; Kivlin et al. 2014).

Také je důležité zdůraznit, že se jedná o nejmladší část výsypky, téměř bez vegetačního pokryvu. MIP je totiž ovlivňován i rostlinami, které se vyskytují na stanovišti. Pokud se na stanovišti vyskytují rostliny méně mykorhizně závislé, může dojít i ke snížení MIPu (Püschel et al. 2008). Někteří autoři se domnívají, že mykorhizní symbiózu ovlivňují spíše rostliny, které se vyskytují na daném stanovišti, než stupeň vývoje půdy, na které rostou (Rydlová, Vosátka 2001; Fyoshi et al. 2006).

Zatímco pro rostliny je nejvíce limitujícím prvkem P, u hub je to naopak N (Johnson et al. 2014). Z půdní analýzy vyplývá, že ve stometrové vzdálenosti je velmi nízký obsah P. Z podstaty AMS vyplývá, že právě v takových případech by měla být kolonizace největší. V našem pokusu je však ve stometrové vzdálenosti kolonizace nejmenší, což by podporovalo hypotézu o neschopnosti vytvořit pro obě strany prospěšný symbiotický vztah.

Hodnoty MIPu byly také průkazně ovlivněny transektem. Zde jsme se zabývali otázkou, zda nemohou být transekty přiléhající na S straně k habrovému porostu a na J straně sousedící s oranicí ovlivněny těmito společenstvy. Testovali jsme tedy, jestli se jednotlivé transekty od sebe liší. Ukázalo se, že při párovém srovnání se transekty mezi sebou neliší. Závislost kolonizace na transektu je zřejmě možné vysvětlit heterogenitou podmínek na stanovišti.

Hodnoty nadzemní i podzemní biomasy byly taktéž průkazně ovlivněny jak vzdáleností od stepi, tak transektem. Nejvyšších průměrných hodnot vždy dosahovala step, zatímco nejnižších průměrných hodnot dosahovala vždy stometrová vzdálenost. Stejně jako u MIPu se nikdy výrazně nelišily hodnoty ze stepi od hodnot v 10 m a nelišili se od sebe navzájem také hodnoty z 30 a 50 m.

Poměr R/S, který je nejvyšší ve stometrové vzdálenosti naznačuje limitaci v podobě živin nebo vody oproti ostatním vzdálenostem (Slavíková 1986).

Pro vyhodnocení MIPu byla použita grid – line intersect method, jež je nejpoužívanější metodou vyhodnocování kolonizace kořenů mykorhizními houbami. Díky relativně malým zvětšením mohou být špatně rozlišitelné struktury vytvořené mykorhizními houbami od infekce jiných, a to zejména patogenních hub. To je také největší nevýhoda této metody (Gryndler et al. 2004).

6. 3. Vliv půdních organismů na růst *Festuca rupicola* a *Koeleria macrantha*

Pro skleníkový pokus, který měl objasnit, zda mají půdní mikroorganismy vliv na šíření druhů z odlišné fáze sukcese, byli vybráni dva zástupci z čeledi Poaceae. Konkrétně druhy *Festuca rupicola* a *Koeleria macrantha*. Oba tyto druhy rostlin jsou schopny tvořit AMS (Akmetzhanova et al. 2012). Oba druhy se také hojně vyskytují na přilehlé stepi, ale na výsypce se mnohem běžněji vyskytuje *F. rupicola*, než *K. macrantha* (Kuťáková 2013). Tímto pokusem jsme se snažili zjistit, zda mají půdní organismy vliv na šíření těchto dvou druhů na výsypku a z jakého důvodu se lépe šíří *F. rupicola*, než *K. macrantha*.

Pro posouzení vlivu půdních organismů na klíčivost a růst vybraných druhů byla část půdy ze stepi i z výsypky sterilizována. Hlavním cílem sterilizace je zničit živé organismy a jejich rozmnožovací části při zachování chemických a fyzikálních vlastností půdy. K získání půdy bez mykorhizních hub se často používá γ záření nebo autoklávování (van der Heijden 1998). Obě metody snižují kolonizaci kořenů na méně než 0,2 % plochy kořene (Endlweber, Scheu 2006). Na druhé straně mohou způsobit

zvýšení koncentrace dostupných živin, jako je N a P nebo ovlivňovat půdní vlastnosti (Endlweber, Scheu 2006, Covacevich et al. 2014).

V našem pokusu zaměřeném na vliv půdních organismů na růst rostlin bylo použito γ záření o hodnotě 28,4 kGy. Při této hodnotě by měla být zničena velká část aktinomycet, hub bezobratlých a také půdních bakterií (Mcnamara et al. 2003).

Při vyhodnocování kolonizace kořenů byla u sterilní varianty kolonizace kořenů nulová, což podporuje efektivitu sterilizace i to, že se podařilo zachovat sterilitu vzorků během pokusu. Z půdní analýzy, která byla provedena v Botanickém ústavu AV ČR, vyplývá, že v našem pokusu došlo po sterilizaci k navýšení množství dostupných živin u N, C, Ca, Mg, K, P. K největšímu navýšení došlo u P, kde se jeho obsah zvýšil o 17 mg/1000 g.

Podle Kardol et al. (2006), lze zařadit oba rostlinné druhy zřejmě mezi časně sukcesní druhy. Takové druhy totiž produkují stejné množství nadzemní biomasy v půdě z prvních fází sukcese, stejně jako v půdě z pozdní fáze sukcese. Do stejné kategorie, co se týče sukcese, řadí *K. macrantha* a *F. rupicola* i Wilson, Hartnett (1998). I v našem pokusu se množství vyprodukované nadzemní biomasy u nesterilní varianty nelišilo mezi rostlinami pěstovanými na půdě ze stepi a z výsypky, a to u obou druhů rostlin. Vliv na množství nadzemní biomasy byl ovlivněn sterilizací, kdy rostliny lépe prospívaly na sterilní půdě. Tento jev si vysvětlujeme zvýšeným množstvím dostupných živin, a to zejména fosforu.

Stejný efekt sterilní půdy byl pozorován i u množství vyprodukované podzemní biomasy. U *K. macrantha* bylo množství podzemní biomasy stejně jako procento kolonizace kořenů nejvyšší na půdě z výsypky, kde je, jak vyplývá z analýzy půdních podmínek, poměrně málo N. Kolonizace a množství podzemní biomasy jsou nižší u rostlin pěstovaných na půdě ze stepi, kde je zároveň vyšší množství N oproti výsypce. Zvýšenou kolonizací a vyšší množství podzemní biomasy je možné vnímat jako reakci na nedostatek některé z živin, v tomto případě N. Vliv půdních mikroorganismů na vegetaci je totiž silnější a také pozitivnější v prostředí se sníženým množstvím živin (Carbajo et al. 2011). Anderson (2008) pozoroval u časně sukcesního druhu ze severoamerické stepi negativní korelaci kolonizace kořenů s absolutním množstvím N v půdě, což je v souladu s našim pozorováním. Oproti našim výsledkům biomasa kořenů byla pozitivně korelována s absolutním množstvím N. Kolonizace kořenů

Festuca rupicola pěstovaných na půdě ze stepi a z výsypky se liší pouze o 1%. Tento rozdíl není tak velký, abychom mohli tvrdit, že se kolonizace kořenů ze stepi a z výsypky liší. I přesto, že není viditelný rozdíl v kolonizaci u rostlin pocházejících z těchto dvou substrátů, více podzemní biomasy bylo produkováno na půdě z výsypky, což by opět naznačovalo limitaci některou z živin.

Poměr R/S vyšší u obou druhů rostlin na výsypce než na stepi také naznačuje nedostatek nějakého prvku oproti stepi (Slavíková 1986).

K. macrantha klíčila průkazně lépe na nesterilní půdě, a to hlavně na nesterilní půdě z výsypky. Hartnett et al. (1994) pozoroval, že množství sazenic *K. macrantha* (v jeho pokusu bylo použito synonymum pro *K. macrantha* *Koeleria cristata*) se snížilo po použití fungicidu, přičemž fungicid neměl podle autora vliv na samotná semena. Podle něj je tedy AMF důležitá pro klíčení semen *K. macrantha* při sníženém množství živin. Jak ukazuje náš pokus, vylepšení půdních podmínek aplikací půdního inokula snižuje klíčivost semen *K. macrantha*. Klíčivost *F. rupicola* byla taktéž snížena aplikací inokula. *F. rupicola* na druhé straně nevykazovala velké rozdíly v klíčivosti mezi stepí a výsypkou. Je tedy zvláštní, že reagovala na inokulaci. Ze studie Partzsch et al. (2011) vyplývá, že *Festuca rupicola* klíčí velmi dobře i bez mykorhizních hub.

Zatímco poměr R/S u *F. rupicola* a *K. macrantha* pěstovaných na půdě ze stepi se liší pouze o 0,1 g a lze tedy říct, že se téměř neliší, poměr R/S je vyšší u *K. macrantha* z výsypky než u *F. rupicola* z výsypky. Zajímavé je, že i když vliv sterilizace nevyšel signifikantně, poměr R/S vyšel menší u sterilní půdy z výsypek ve srovnání s nesterilní variantou z výsypek.

F. rupicola, jež je dominantní travinou některých xerothermních trávníků a některé druhy travin dokáže vytlačovat z těchto stanovišť (Partzsch 2011), se zdá být mnohem méně senzitivní k podmínkám na stanovišti v porovnání ke *K. macrantha*. I když se AMS neprojevila na množství vyprodukované biomasy u *K. macrantha*, zdá se, že *K. macrantha* v podmínkách s nedostatkem živin zvyšuje intenzitu AMS. AMF jsou navíc velmi důležité při klíčení a růstu semenáčků tohoto druhu.

Na druhé straně je třeba říci, že klíčivost a růst námi vybraných druhů mohly být ovlivněny původem semen, neboť ta nepocházela z lomu Čeřinka. Ukazuje se totiž, že

efektivita AMS je dána původem rostliny, houby i půdy (Pankova et al. 2011, Pánkov et al. 2014).

7. Závěr

Předmětem studia této diplomové práce byla výsypka vápencového lomu Čeřinka, kterou jsme sledovali čtvrtý a pátý rok od jejího vzniku. Hodnoty MIPu se lišily mezi výsypkou přilehlou stepi i nejmladší částí výsypky. Hodnoty na výsypce se mění také se vzdáleností od stepi. MIP na stepi a na výsypce byl poměrně vysoký, dosahoval 80 %, respektive 90 % kolonizace kořenů. Výjimku tvořila nejmladší část výsypky s kolonizací okolo 30 %, ta také dosahovala nejnižšího množství vyprodukované biomasy. Zdá se tedy, že mykorhizní houby se šíří i na místa, jako jsou výsypky, poměrně rychle. Nejnížší hodnoty MIPu ve stometrové vzdálenosti od stepi se dají zřejmě vysvětlit nízkým stářím substrátu a absencí rostlinného krytu. Dá se nicméně očekávat, že se zlepšením podmínek - zvýšením množství živin, šířením rostlin, dalším šířením mykorhizních hub, se MIP bude zvyšovat.

Aplikace půdního inokula na vybrané plochy na výsypce neukazují zatím změnu ve složení rostlinného společenstva. Prozatímni neefektivitu půdního inokula lze zřejmě vysvětlit krátkou dobou mezi aplikací inokula a odečtem vegetace. Dle záznamů z literatury lze zřejmě očekávat na inokulovaných plochách posun blíže ke stepnímu společenstvu během několika let.

Skleníkový pokus srovnávající růst rostlin s rozdílnou rychlostí šíření na výsypku ukázal, že AMF mohou být obzvlášť prospěšné pro druhy, které mají horší schopnost šířit se. Konkrétně u druhu *Koeleria macrantha* byla mykorhizní symbióza důležitá při samotném klíčení na půdě z výsypky pravděpodobně kvůli nízkému množství N. Tento pokus také ukázal, že druhy z prvních fází sukcese (v této práci *Festuca rupicola*), i přesto, že vytváří funkční symbiotický vztah, se dokážou dobře vyrovnat se zhoršenými podmínkami na stanovišti, a to i bez přítomnosti AMF.

8. Použitá literatura

ANDERSON, R. C. Growth and arbuscular mycorrhizal fungal colonization of two prairie grasses grown in soil from restorations of three ages. *Restoration Ecology*. 2008, roč. 16, č. 4, s. 650-656.

ALLEN, E. B. a M. F. ALLEN. Natural re-establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizae following stripmine reclamation in wyoming. *The Journal of Applied Ecology*. 1980, roč. 17, č. 1, s. 139-147.

ALLEN, M. F., L. E. HIPPS a G. L. WOOLDRIDGE. Wind dispersal and subsequent establishment of VA mycorrhizal fungi across a successional arid landscape. *Landscape Ecology*. 1989, roč. 2, č. 3, s. 165-171.

BAASCH, A., A. KIRMER a S. TISCHEW. Nine years of vegetation development in a postmining site: effects of spontaneous and assisted site recovery. *Journal of Applied Ecology*. 2012, roč. 49, č. 1, s. 251-260.

BARDGETT, R., W. BOWMAN, R. KAUFMANN a S. SCHMIDT. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology*. 2005, roč. 20, č. 11, s. 634-641.

CARBAJO, V., B. den BRABER, W. H. van der PUTTEN a G. B. De DEYN. Enhancement of late successional plants on ex-arable land by soil inoculations. *PLoS ONE*. 2011, roč. 6, č. 7, s. 1-11.

COVACEVICH, F., C. CASTELLARI a H. ECHEVERRIA. Physical and chemical methods for eliminating propagules of indigenous mycorrhizal fungi from soil samples. *Revista argentina de microbiología*. 2014, roč. 46, č. 3, s. 231-236.

ENDLWEBER, K. a S. SCHEU. Establishing arbuscular mycorrhiza-free soil: A comparison of six methods and their effects on nutrient mobilization. *Applied Soil Ecology*. 2006, roč. 34, č. 2-3, s. 276-279.

EOM, A. H., D. C. HARTNETT a G. W. T. WILSON. Host plant species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrass prairie. *Oecologia*. 2000, roč. 122, č. 3, s. 435-444.

FITTER, A. H. a R. NICHOLS. The use of benomyl to control infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 1988, roč. 110, č. 2, s. 201-206.

FROST, S. M., P. D. STAHL a S. E. WILLIAMS. Long-term reestablishment of arbuscular mycorrhizal fungi in a drastically disturbed semiarid surface mine soil. *Arid Land Research and Management*. 2001, roč. 15, č. 1, s. 3-12.

- FUJIYOSHI, M., A. KAGAWA, T. NAKATSUBO a T. MASUZAWA. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and soil developmental stages on herbaceous plants growing in the early stage of primary succession on Mount Fuji. *Ecological Research*. 2005, roč. 21, č. 2, s. 278-284.
- GALLI, U., H. SCHUEPP a Ch. BRUNOLD. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiologia Plantarum*. 1994, roč. 92, č. 2, s. 364-368.
- GANGE, A. C., V. K. BROWN a L. M. FARMER. A test of mycorrhizal benefit in an early successional plant community. *New Phytologist*. 1990, roč. 7, č. 5, s. 85-91.
- GANGE, A. C., V. K. BROWN a G. S. SINCLAIR. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession. *Functional Ecology*. 1993, roč. 7, č. 5, s. 616-622.
- GIOVANNETTI, M. a B. MOSSE. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*. 1980, roč. 84, č. 3, s. 489-500
- GONZÁLEZ-GUERRERO, M., L. H. MELVILLE, N. FERROL, J. N.A. LOTT, C. AZCÓN-AGUILAR a R. L. PETERSON. Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Microbiology*. 2008, roč. 54, č. 2, s. 103-110.
- GOULD, A. B., J. W. HENDRIX a R. S. FERRISS. Relationship of mycorrhizal activity to time following reclamation of surface mine land in western Kentucky. I. Propagule and spore population densities. *Canadian Journal of Botany*. 1996, roč. 74, č. 2, s. 247-261.
- GRYNDLER, M. *Mykorhizní symbióza: o soužití hub s kořeny rostlin*. Vyd. 1. Praha: Academia, 2004, 366 s. ISBN 80-200-1240-0.
- GRYNDLER, M., R. SUDOVA, D. PUSCHEL, J. RYDLOVA, M. JANOUSKOVA a M. VOSATKA. Cultivation of high-biomass crops on coal mine spoil banks: Can microbial inoculation compensate for high doses of organic matter?. *Bioresource Technology*. 2008, roč. 99, č. 14, s. 6391-6399.
- HARLEY, J. L. a E. L. HARLEY. A check-list of mycorrhiza in the british flora-second addenda and errata. *New Phytologist*. 1990, roč. 115, č. 4, s. 699-711.
- HARTNETT, D. C., R. J. SAMENUS, L. E. FISCHER a B. A. D. HETRICK. Plant demographic responses to mycorrhizal symbiosis in tallgrass prairie. *Oecologia*. 1994, roč. 99, 1-2, s. 21-26.
- HEIJDEN, M. G. A. van der, J. N. KLIRONOMOS, M. URSIC, P. MOUTOGLIS, R. STREITWOLF-ENGEL, T. BOLLER, A. WIEMKEN a I. SANDERS. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*. London: Nature Publishing Group, 1998, roč. 396, č. 6706, 69-72.

HEIJDEN, M. G. A. van der, T. BOLLER, A. WIEMKEN a I. R. SANDERS. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*. 1998, roč. 79, č. 6, s. 2082-2091.

HODACOVA, D. a K. PRACH. Spoil heaps from brown coal mining: technical reclamation versus spontaneous revegetation. *Restoration Ecology*. 2003, roč. 11, č. 3, s. 385-391.

JANOS, D. P. Mycorrhizae Influence Tropical Succession. *Biotropica*. 1980, roč. 12, č. 2, s. 56-64.

JOHNSON, N. C., G. W. T. WILSON, J. A. WILSON, R. M. MILLER a M. A. BOWKER. Mycorrhizal phenotypes and the Law of the Minimum. *New Phytologist*. 2014, roč. 205, č. 4, s. 1473-1484.

JUMPPONEN, A. a L. M. EGERTON- WARBURTON Mycorrhizal fungi in successional environments: A community assembly model incorporating host plant, environmental, and biotic filters. WHITE, In: James F. *The Fungal community: its organization and role in the ecosystem*. Boca Raton, FL: Taylor, 2005, s. 139-168

KARDOL, P., T. M. BEZEMER a W. H. van der PUTTEN. Temporal variation in plant-soil feedback controls succession. *Ecology Letters*. 2006, roč. 9, č. 9, s. 1080-1088.

KIVLIN, S. N., G. C. WINSTON, M. L. GOULDEN a K. K. TRESEDER. Environmental filtering affects soil fungal community composition more than dispersal limitation at regional scales. *Fungal Ecology*. 2014, roč. 12, č. 1, s. 14-25.

KOSKE, R.E., J.N. GEMMA a D. J. READ. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*. 1989, roč. 92, č. 4, s. 486-505.

Kučáková, E. (2013). Sukcese vegetace na vápencovém lomu. *Diplomová práce*. Praha, 67 s.

MARTÍNEZ-GARCÍA, L. B., S. J. RICHARDSON, J. M. TYLIANAKIS, D. A. PELTZER a I. A. DICKIE. Host identity is a dominant driver of mycorrhizal fungal community composition during ecosystem development. *New Phytologist*. 2014, roč. 205, č. 4, s. 1565-1576.

Mayerová, H. (2009). Druhové vlastnosti určující reakci rostlin na pastvu ovcí a koz na modelové lokalitě Pání hora v CHKO Český kras. *Diplomová práce*. Praha, 68 s.

MCNAMARA, N.P., H.I.J. BLACK, N.A. BERESFORD a N.R. PAREKH. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils. *Applied Soil Ecology*. 2003, roč. 24, č. 2, s. 117-132.

MIDDLETON, E. L. a J. D. BEVER. Inoculation with a native soil community advances succession in a grassland restoration. *Restoration ecology*. 2012, roč. 20, č. 2, s. 218-226.

MOORMAN, T. a F. B. REEVES. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *American Journal of Botany*. 1979, roč. 66, č. 1, s. 14-18.

NOYD, R. K., F. L. PFLEGER a M. P. RUSSELLE. Interactions between native prairie grasses and indigenous arbuscular mycorrhizal fungi: implications for reclamation of taconite iron ore tailing. *New Phytologist*. 1995, roč. 129, č. 4, s. 651-660.

OEHL, F., D. SCHNEIDER, E. SIEVERDING a C. A. BURGA. Succession of arbuscular mycorrhizal communities in the foreland of the retreating Morteratsch glacier in the Central Alps. *Pedobiologia*. 2011, roč. 54, č. 5-6, s. 321-331.

PÁNKOVÁ, H., Z. MÜNZBERGOVÁ, J. RYDLOVÁ a M. VOSÁTKA. Co-adaptation of plants and communities of arbuscular mycorrhizal fungi to their soil conditions. *Folia Geobotanica*. 2014, roč. 49, č. 4, s. 521-540.

PANKOVA, H., Z. MUNZBERGOVA, J. RYDLOVA a M. VOSATKA. The response of *Aster amellus* (Asteraceae) to mycorrhiza depends on the origins of both the soil and the fungi. *American Journal of Botany*. 2011, roč. 98, č. 5, s. 850-858.

PARTZSCH, M. Does land use change affect the interactions between two dry grassland species?. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2011, roč. 206, č. 6, s. 550-558.

PARTZSCH, M., Ch. PIESCH a I. HENSEN. A comparative study of germination biology and plant performance in two dry grassland species. *Folia Geobotanica*. 2010, roč. 46, č. 1, s. 35-48.

PRACH, K. a R. J. HOBBS. Spontaneous succession versus technical reclamation in the restoration of disturbed sites. *Restoration ecology*. 2008, roč. 16, č. 3, s. 363-366.

PÜSCHEL, D., J. RYDLOVÁ a M. VOSÁTKA. Does the sequence of plant dominants affect mycorrhiza development in simulated succession on spoil banks?. *Plant and Soil*. 2008, roč. 302, 1-2, s. 273-282.

PÜSCHEL, D., J. RYDLOVÁ a M. VOSÁTKA. The development of arbuscular mycorrhiza in two simulated stages of spoil-bank succession. *Applied Soil Ecology*. 2007, roč. 35, č. 2, s. 363-369.

PÜSCHEL, D., J. RYDLOVÁ a M. VOSÁTKA. Mycorrhiza influences plant community structure in succession on spoil banks. *Basic and Applied Ecology*. 2007, roč. 8, č. 6, s. 510-520.

PÜSCHEL, D., J. RYDLOVÁ, R. SUDOVÁ a M. GRYNDLER. Cultivation of flax in spoil-bank clay: Mycorrhizal inoculation vs. high organic amendments. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2008, roč. 171, č. 6, s. 872-877.

REEVES, F. B., 1985. Survival of VA mycorrhizal –interactions of secondary succession, mycorrhizal dependency in plants, and resource competition. In: Molina, R., Proceedings of the sixth north american conference of mycorrhizae., s. 110-113.

ROWE, H. I., C. S. BROWN a V. P. CLAASSEN. Comparisons of mycorrhizal responsiveness with field soil and commercial inoculum for six native montane species and bromus tectorum. *Restoration Ecology*. 2007, roč. 15, č. 1, s. 44-52.

RYDLOVÁ, J. a M. VOSÁTKA. Associations of dominant plant species with arbuscular mycorrhizal fungi during vegetation development on coal mine spoil banks. *Folia Geobotanica*. 2001, roč. 36, č. 1, s. 85-97.

RYDLOVÁ, J., D. PÜSCHEL, M. VOSÁTKA a K. CHARVÁTOVÁ. Different effect of mycorrhizal inoculation in direct and indirect reclamation of spoil banks. *Journal of Applied Botany and Food Quality* . 2008, roč. 82 č. 1, s. 15- 20.

RYDLOVÁ, J., D. PÜSCHEL, R. SUDOVÁ, M. GRYNDLER, O. MIKANOVÁ a M. VOSÁTKA. Interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia: Effects on flax yield in spoil-bank clay. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2010, roč. 174, č. 1, s. 128-134.

SCHULZ, F. a G. WIEGLEB. Development options of natural habitats in a post-mining landscape. *Land Degradation*. 2000, roč. 11, č. 2, s. 99-110.

SLAVÍKOVÁ, J. *Ekologie rostlin*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986, 366 s. ISBN 14-446-86.

SMITH, M. D., D. C. HARTNETT a C. W. RICE. Effects of long-term fungicide applications on microbial properties in tallgrass prairie soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 2000, roč. 32, č. 7, s. 935-946.

SMITH, S., D. READ a J HARLEY. *Mycorrhizal symbiosis*. 2nd ed. San Diego, Calif.: Academic Press, 1997, 605 s. ISBN 01-265-2840-3.

ŠMILAUER, P. a M. ŠMILAUEROVÁ. Effect of AM symbiosis exclusion on grassland community composition. *Folia Geobotanica*. 2000, roč. 35, č. 1, s. 13-25.

TITUS, J. H. a R. del MORAL. The role of mycorrhizal fungi and microsites in primary succession on mount st. Helens. *American Journal of Botany*. 1998, roč. 85, č. 3, s. 370-375.

TOWNSEND, C. R, M. BEGON a J. L HARPER. *Základy ekologie*. 1. české vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2010, 505 s. ISBN 978-802-4424-781.

TROPEK, R., T. KADLEC, P. KARESOVA, L. SPITZER, P. KOCAREK, I. MALENOVSKY, P. BANAR, I. H. TUF, M. HEJDA a M. KONVICKA. Spontaneous succession in limestone quarries as an effective restoration tool for endangered arthropods and plants. *Journal of Applied Ecology*. 2010, roč. 47, č. 1, s. 139-147.

TURNAU, K., P. MLECZKO, D. BLAUDEZ, M. CHALOT, B. BOTTON, E. CHUDZIŃSKA, A. WOJNICKA-PÓŁTORAK, W. PRUS-GŁOWACKI, K. CELIŃSKI, J. B. DIATTA a L. DROBEK. Heavy metal binding properties of *Pinus sylvestris* mycorrhizas from industrial wastes. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2002, roč. 71, č. 3, s. 195-213.

VESSEY, J. K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*. 2003, roč. 255, č. 2, s. 571-586.

VESELKIN, D. V. Participation of plants of different mycotrophic status in the succession leading to "agrosteppe" formation. *Russian Journal of Ecology*. 2012, roč. 43, č. 4, s. 289-293.

WALKER, L. R. *Ecosystems of disturbed ground*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 1999. ISBN 978-008-0550-848.

WARNER, N. J., M. F. ALLEN a J. A. MACMAHON. Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. *Mycologia*. 1987, roč. 79, č. 5, s. 721-730.

WARDLE, D. A., D. A. WARDLE a D. A. PELTZER. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*. 2004, roč. 304, č. 5677, s. 45-68.

WESTOVER, K. M., A. C. KENNEDY, S. E. KELLEY, W. ACHOUAK a F. E. HAICHAR. Patterns of rhizosphere microbial community structure associated with co-occurring plant species. *The Journal of Ecology*. 1997, roč. 85, č. 6, s. 161-167.

WILSON, G. W. T. a D. C. HARTNETT. Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in tallgrass prairie. *American Journal of Botany*. 1998, roč. 85, č. 12, s. 1732-1738.

WRIGHT, S.F. a A. UPADHYAYA. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 1998, roč. 198, č. 1, s. 97-107.

Další zdroje:

Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky: Český kras- charakteristika oblasti (15. 3. 2015). <http://ceskykras.ochranaprirody.cz/charakteristika-oblasti/>

Akhmetzanova N.: Databáze rostlinných druhů s popisem mykorhizních vlastností (3. 5. 2015). <http://esapubs.org/archive/ecol/E093/059/default.htm>

Česká geologická služba: Geologické lokality- Čerínka u Bubovic (20. 2. 2015). <http://lokality.geology.cz/194>

Geospeleos: Lokality-Arnoldka (3. 2. 2015). <http://www.geospeleos.com/Lokality/Arnoldka/Index.htm>

Lomy Mořina: Provoz Mořina- charakteristika těženého materiálu (6. 3. 2015). <http://www.lomy-morina.cz/>